

OVER HET SLUITEN VAN DE NEURAALBUIS

EEN EXPERIMENTEEL-MORPHOLOGISCHE
STUDIE BIJ URODELEN

Groningen

I. BOEREMA

OVER HET SLUITEN VAN DE NEURAALBUIS

OVER HET SLUITEN VAN DE NEURAALBUIS

EEN EXPERIMENTEEL-MORPHOLOGISCHE
STUDIE BIJ URODELEN

PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN DEN
GRAAD VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN
DE RIJKSUNIVERSITEIT TE GRONINGEN, OP
GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS DR. J.
LINDEBOOM, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT
DER GODGELEERDHEID, TEGEN DE BEDENKIN-
GEN VAN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE
IN HET OPENBAAR TE VERDEDIGEN OP VRIJDAG
18 MEI 1928, DES NAMIDDAGS TE 4 UUR DOOR

ITE BOEREMA

ARTS

GEBOREN TE UITHUIZEN

AAN MIJN OUDERS

Bij het verschijnen van dit proefschrift grijp ik gaarne de gelegenheid aan U, Hooggeleerden, Oud-Hooggeleerden en Docenten der natuurphilosophische en geneeskundige faculteiten te Groningen mijn oprechten dank te betuigen voor het onderwijs, dat ik van U heb ontvangen.

Allereerst zeg ik in het bijzonder dank U, Hooggeleerden WOERDEMAN, Hooggeachten Promotor. Uw bezielend enthousiasme voor de experimenteele morphologie en Uw hartelijke belangstelling in mijn onderzoek, waren mij tot grooten steun en deden mij volharden, wanneer de moeilijkheden soms onoverkomelijk schenen. Ik beschouw het als een voorrecht Uw assistent te zijn geweest.

Ook U, Hooggeleerden VAN WIJHE, zeg ik dank voor het groote aandeel, dat Gij in mijn wetenschappelijke opleiding heb gehad, door mij als Uw assistent, onder Uw leiding te laten werken. Uw groote toewijding en Uw strenge eerlijkheid in het wetenschappelijke onderzoek zal ik steeds met bewondering blijven gedenken.

U, Hooggeleerden KOCH, zeg ik hartelijk dank, dat Gij mij in staat stelt om na deze microchirurgische oefeningen ook de chirurgie bij grootere afmetingen te leeren beheerschen.

Voor de prettige samenwerking en den steun, die ik ook van U ontving, Hooggeachte Mej. BIJTEL, betuig ik mijn oprechten dank.

Tenslotte mag ook een woord van dank aan het personeel van het Anatomisch-Embryologisch laboratorium voor zoo menige behulpzaamheid niet achterwege blijven.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

HOOFDSTUK I.

DE NORMALE ONTWIKKELING VAN DE NEURAALBUIS BIJ AXOLOTL EN TRITON TAENIATUS.

Aan het levende ei van Axolotl laat zich de vorming van de neuraalplaat en neuraalbuis onder het binoculair microscoop duidelijk vervolgen.

Na de klieving van de bevruchte eicel in tweeën, daarna in vieren, dan in achten enz., ziet men het stadium van de morula, gevolgd door het grootcellig en tenslotte het kleincellig blastulastadium. Tijdens de steeds verder opgetreden klieving is er nu een holte in de celmassa ontstaan.

Hierna begint een geheel nieuw proces: de gastrulatie. Een gedeelte van de cellaag, die den wand vormt, stulpt naar binnen. De plaats, waar dat geschiedt, ziet men aan de beginnende gastrula eerst als een gepigmenteerde, onregelmatig gebroken lijn, iets onder den aequator van het ei. Steeds meer stulpt in, zoodat tenslotte de larve bestaat uit een niet ingestulpt blad, het ectoderm, en een ingestulpt gedeelte, dat tot entoderm en mesoderm wordt. De instulpingsopening, oermond, oeranus of blastoporus geheeten, verandert van vorm. Eerst bestaat zij uit een onregelmatig gebroken lijn. De uiteinden ervan buigen nu naar elkaar toe en de groeve wordt dieper. De oermond is dan hoefijzervormig. Nog verder gaan de hoeken van den oermond naar elkaar toe, zoodat ze elkaar tenslotte aanraken en de

oermond dus rond is geworden. In de ronde opening ligt dan nog een prop ingestulpte cellen zichtbaar, de z.g. prop van RUSCONI. Deze is wit, het ectoderm is grijs gepigmenteerd. Deze RUSCONI'sche prop wordt steeds kleiner en tegelijkertijd wordt de oermond kleiner. Is de prop verdwenen, dan is de oermond een overlangsche spleetje geworden, dat in de diepte zakt en slecht zichtbaar wordt. VAN BAMBEKE (2) meende na het bekijken met de loupe, dat de oermond geheel verdween; serieën coupes toonden echter aan, dat hij bij Axolotl blijft bestaan. (CLARKE (7); HOUSSAY et BATAILLON (19)).

Is het ei gekomen in het stadium van den ronden oermond, in welke zich de prop van RUSCONI bevindt, dan bestaat de larve uit de drie kiembladen. Het geheele ei is dan omgeven door het grijs gepigmenteerde ectoderm. Uitwendig vertoont het ei nu gedurende eenigen tijd weinig veranderingen. Al naarmate de temperatuur van het water, waarin het embryo zich bevindt, hooger of lager is, wordt de volgende phase van de ontwikkeling eerder of later zichtbaar.

Het nog min of meer bolvormige ei begint een sterkere pigmentatie te vertoonen op den bovenkant. Deze pigmentatie bestaat in 1^o. een zwakke streep, die in het mediaanvlak uitgaat van den oermond naar dorsaal en 2^o. in een gepaarde streep, die uitgaande van de meer laterale deelen van de dorsale oermondlip eveneens loopt over de bovenste helft van het ei, maar meer lateraal, zelfs dicht bij den aequator. Naar voren zijn beide strepen nog niet te vervolgen (fig. 1a).

De strepen beginnen later naar voren eveneens zichtbaar te worden. De gepaarde loopt voor om het ei heen en terwijl de helften in elkaar overgaan, vormen deze nu een pigmentstreep, die als een hoefijzer over het

dorsale deel van het embryo heen loopt, beginnende en eindigende bij den oermond. Het gebied, dat tusschen deze streep besloten ligt, is de neuraalplaat, dus het deel van het ectoderm, dat zich later zal ontwikkelen tot het centrale zenuwstelsel.

De pigmentstrepen beginnen zich na eenigen tijd voor te doen als sleuven. De mediane is het minst diep. Ze loopt van den oermond naar voren tot den achterrand van een kleine inzinking, welke direct achter het dwarse deel van de hoefijzervormige pigmentstreep ligt.

De hoefijzervormige pigmentstreep wordt een diepere groef. Ze lijkt bovendien nog dieper, doordat de streep aan den geheelen buitenkant wordt omgeven door een flauwe, walvormige welving, den neurawal (fig. 1 *b—j*). Deze wallen gaan zich meer en meer verheffen. Aan den binnenkant zijn ze steeds scherp begrensd door de gepigmenteerde groeve; aan den buitenkant, waar geen pigmentverschillen zijn, is de grens minder scherp zichtbaar. Deze wallen hebben, wanneer ze juist zichtbaar zijn geworden, eveneens een hoefijzervorm. Dit verandert spoedig. Ongeveer op den halven afstand van oermond tot het dwarse stuk van den wal beginnen de wallen van links en rechts elkaar te naderen (fig. 1 *d* bij *). De wallen naderen elkaar hier steeds meer, later ook van de meer caudale en craniale gedeelten van de neuraalplaat. De geheele plaat begint gedurende het elkaar naderen van de wallen steeds meer gepigmenteerd te worden; de wallen zelf zijn even weinig gepigmenteerd als de rest van het ectoderm. Aan het vooreinde gaat de nadering van de wallen gepaard met een scherp knik van den wal in het mediaanvlak (fig. 1 *i* bij *). In het middendeel zijn de wallen elkaar het eerst geheel genaderd; vóór raken ze elkaar later;

nog later achter. De vergroeiing, welke tusschen de elkaar nu rakende wallen optreedt, geschiedt volgens EYCLESNIJMER (9) over de geheele lengte gelijktijdig; volgens de meeste andere schrijvers (CLARKE (7); HOUSSAY et BATAILLON (19)) treedt de vergroeiing eerst in het midden op; daarna sluit de voorste opening, het laatst de achterste. Deze laatste voorstelling komt overeen met mijn eigen waarnemingen.

De neuraalwallen, welke eerst een gelijkmatige dikte hadden, vertoonen al spoedig een verschil in volumen op verschillende plaatsen. Het voorste deel van de hoefijzervormige wallen wordt dikker en vertoont een paar insnoeringen (fig. 1j). Bij de sluiting is de opzwellings reeds aanzienlijk, en bij de juist gesloten buis herkent men aan het voorste deel van het centrale zenuwstelsel duidelijk drie opzwellingen, de drie primaire hersenblazen; het deel van de neuraalbuis, dat meer caudaal ligt, zal worden tot ruggemerg met zijn derivaten (spinaalgangliën, spinaalzenuwen, mogelijk ook de sympathicus) (fig. 1k).

Onder het ectoderm ligt dus nu een geheel gesloten buis, die een lumen bevat, hetwelk is afgesnoerd van de buitenwereld. De buis ligt over de rest van het intusschen door strekking langwerpige geworden embryo, als de rups over een helm (fig. 1l).

Om nauwkeurig de ontwikkeling van de neuraalplaat na te gaan, dient men gefixeerd materiaal te gebruiken, dat in serieën van dwarse coupes gesneden en gekleurd is. Microscopisch ziet men dan in stadiën, vóór het optreden van de wallen, het ectoderm (bij Axolotl) als een continue laag van éénlagig cylinderepithel het ei omgeven. De kernen zijn onregelmatig van vorm en plomp.

In stadiën, waar de neuraalplaat reeds is aangeduid door pigmentatie, maar nog geen wallen zijn opge-

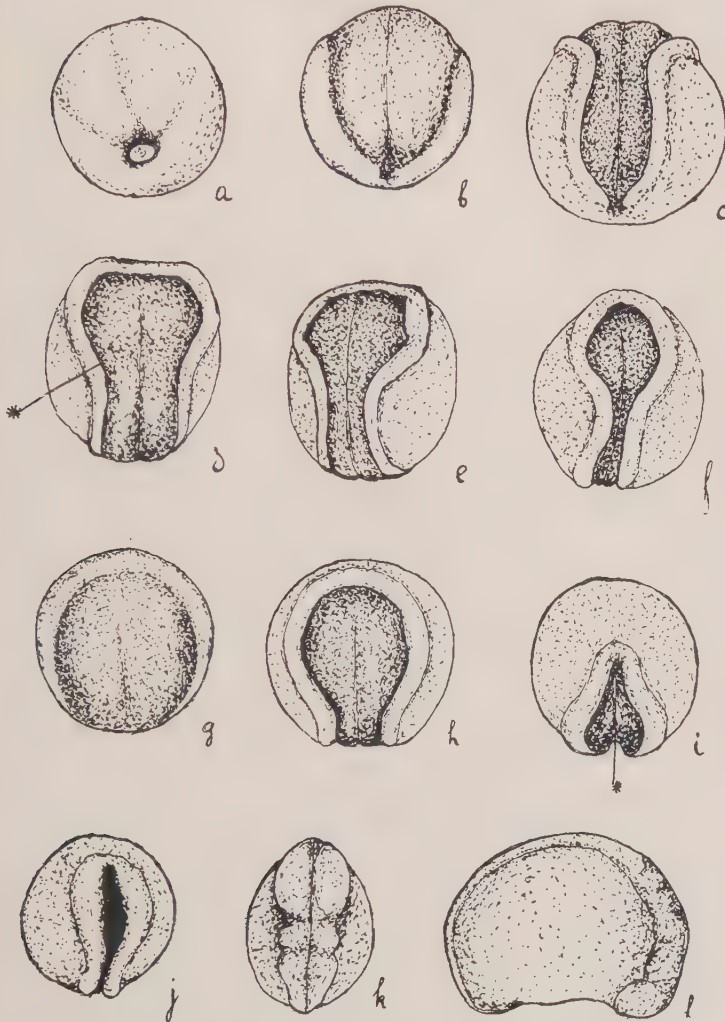


Fig. 1. Naar microphotographieën van eieren van Axolotl, in verschillende stadiën van de neuraalplaat. *a-c* achteraanzicht; *d-f* bovenaanzicht; *g-k* vooraanzicht; *l* aanzicht van rechts.

treden, ziet men bijna de geheele neuraalplaat nog denzelfden celvorm hebben als het geheele ectoderm in het vorige stadium. Alleen is er een verandering opgetreden in het meest laterale deel van de neuraalplaat, dus ter plaatse van de laterale pigmentstreep. Hier zijn de cellen van het oorspronkelijke ectoderm hooger geworden, waardoor de binnencontour van het ectoderm op dwarse doorsneden een welving vertoont naar binnen toe. Lateraal wordt de plaat weer snel dunner om, in dit stadium nog zonder scherpe grens, over te gaan in het overige ectoderm. De kernen in de plaat zijn nu iets slanker dan in het overige ectoderm en staan loodrecht op de oppervlakte.

In een wat later stadium wordt de verdikking van het laterale deel van de neuraalplaat duidelijker en nu wordt ook een scherpe grens zichtbaar tusschen het dikke laterale deel van de neuraalplaat en de rest van het ectoderm. Verder ziet men van nu af aan in de uiterste deelen van de neuraalplaat een verandering optreden in den stand der kernen. De kernen, die met hun lengteas loodrecht op het oppervlak stonden, dus gericht naar het middelpunt van het ei, beginnen in het laterale deel van de neuraalplaat zich radiaal te stellen ten opzichte van dat punt van de oppervlakte, waar later de laterale medullairsleuf zal komen en waar nu dus nog slechts de pigmentstreep zich bevindt. Tegelijkertijd begint het meest laterale deel van de neuraalplaat met het aangrenzende ectoderm zich te verheffen, het begin van de neuraalwallen. Over de geheele breedte van de neuraalplaat is deze nu dikker dan het ectoderm.

De wallen, bestaande uit het zich omkrullende, meest laterale deel van de neuraalplaat en het aangrenzende

ectoderm (fig. 2 en 4) gaan zich steeds meer verheffen. De verdikking van de neuraalplaat, ook in het nog niet krullende deel, wordt steeds grooter. Het krullende deel blijft echter voortdurend het dikste deel van de neuraalplaat. Met de steeds meer naar mediaal optredende omkrulling van de neuraalplaat treedt tegelijkertijd steeds meer naar mediaal de radiaire plaatsing van de kernen op. De kernen zijn voortdurend gericht naar de laterale medullairsleuf. Het ectoderm, dat in de jongere stadiën grensde aan het meest laterale deel van de plaat, gaat later op den top van de wallen en, bij steeds verdergaande krulling, tenslotte aan den binnenkant van de wallen over in de neuraalplaat.

Onder de neuraalplaat ligt in het mediaanvlak de chorda dorsalis, die zich, zooals LAMPERT (20) bij Axolotl aantoonde, uit entoderm ontwikkelt. Deze breede, platte, soliede celmassa dringt in een ondiepe sleuf aan den onderkant van de neuraalplaat (fig. 2). Hierboven zijn de kernen van de plaat niet langgerekt, maar rond op doorsnede. Ook bevinden zich ronde kernen in het uiterst laterale deel van de plaat (LEHMANN (21)).

Wanneer tenslotte het krommen van de neuraalplaat zoover is gevorderd, dat de wallen van links en rechts elkaar raken, treedt er een vergroeiing op van het ectoderm, dat de wallen reeds geheel bedekte. De neuraalplaat is nu tot een buis gesloten, doordat tusschen de omgebogen, laterale deelen van de neuraalplaat zich een celmassa bevindt, afkomstig van het ectoderm, met ronde kernen. Deze laat tenslotte los van het buitenste ectoderm, zoodat dan de neuraalbuis geheel vrij onder het ectoderm ligt. Het is dan een buis met dikken wand en een dwars-ovaal lumen. Mediaan treedt nu in het ventrale deel een spleet op, uitgaande

van het lumen. Deze spleet gaat bijna geheel door de dikte van den wand heen. Ook dorsaal treedt mediaan een verdunning van den wand op, zoodat tenslotte de neuraalplaat een buis wordt met een ventro-dorsaal gericht, spleetvormig lumen; de wand wordt gevormd door een dun dak, een dunnen bodem en twee zeer dikke zijvleugels, nog weer te verdeelen in een dorsaal deel, de vleugelplaat, en een ventraal deel, de grondplaat (fig. 2). In deze zijvleugels hebben de kernen nu na het sluiten van de buis hun zuiver radiaire plaatsing verloren; deze plaatsen zich loodrecht op de myotomen, dus medio-lateraal en dorso-ventraal. Nog later staan de langgerekte kernen vrijwel zuiver medio-lateraal. De langgerekte kernen vindt men nu in dat deel van de neuraalbuis, dat aan het lumen grenst. Hieromheen ziet men een mantel van kernen, die op dwarse doorsnede rond zijn.

Bij Anuren bestaat de nog breede neuraalplaat uit twee cellagen: een dunne buitenste (Deckschicht) en een dikkere binnenste (Grundschrift) (GOETTE). Bij Axolotl is dit niet het geval. Hier bestaat de neuraalplaat, in stadiën, waarin de wallen reeds zeer duidelijk zichtbaar zijn, uit één laag cylindercellen. LAMPERT (20) beschrijft ze als kegelvormig en alterneerend geplaatst, de spitse punten afwisselend naar binnen en naar buiten gericht. Hij wijst erop, dat men hierdoor licht de neuraalplaat als uit twee cellagen bestaande kan opvatten.

In mijn praeparaten van Axolotl, gesneden in dwarse coupes van vijf micra, bleek mij ook, dat de neuraalplaat bestaat uit één laag cylinderepitheel (fig. 3 a). De kernen liggen niet in één vlak, waardoor het in coupes, waar het sneevak niet loodrecht op de oppervlakte stond, lijkt alsof er een meerlagig epitheel is.

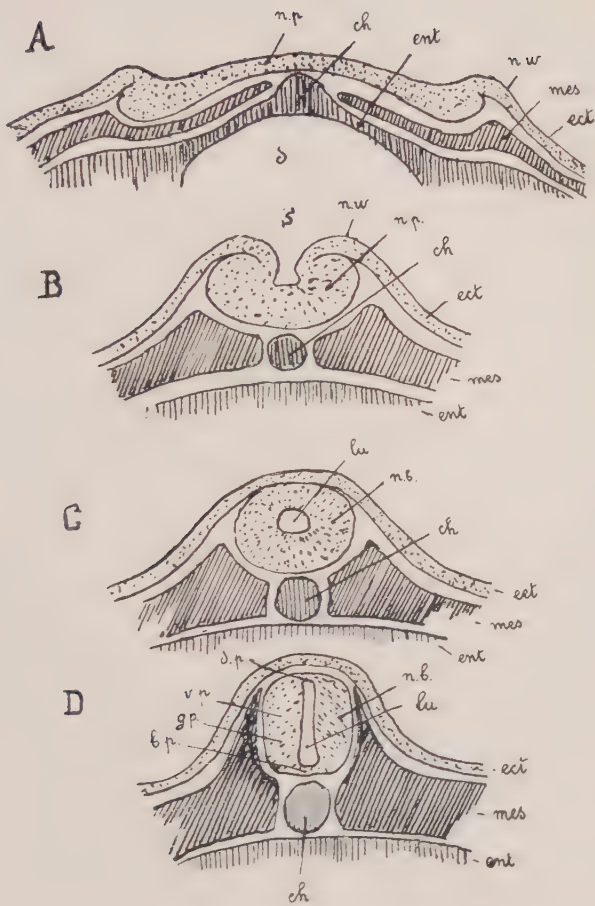


Fig. 2. Schema van de ontwikkeling van de neuraalplaat tot neuraalbuis.

A. Neuraalplaat breed.

B. Neuraalplaat smal.

C. Neuraalbuis juist gesloten; rond lumen; nog geen dunne basaalplaat of dekplaat.

D. Neuraalbuis iets later; buiswand en lumentypische vorm. np. neuraalplaat; ch. chorda; ent. entoderm; nw. neuraalwal; mes. mesoderm; ect. ectoderm; d. darmholte; s. medullairsleuf; lu. lumen; d.p. dekplaat; v.p. vleugelplaat; g.p. grondplaat; b.p. basaalplaat.

Verder merkte ik in die coupes, welke loodrecht op het oppervlak van het ei stonden en dus de cylindercellen in haar lengte troffen, nog eenige bijzonderheden op. Gaande van mediaal naar lateraal ziet men de cellen steeds langer worden, het langst zijn ze in het krullende deel van de neuraalplaat, dan worden ze snel korter, tot waar ze aan het ectoderm grenzen. In het

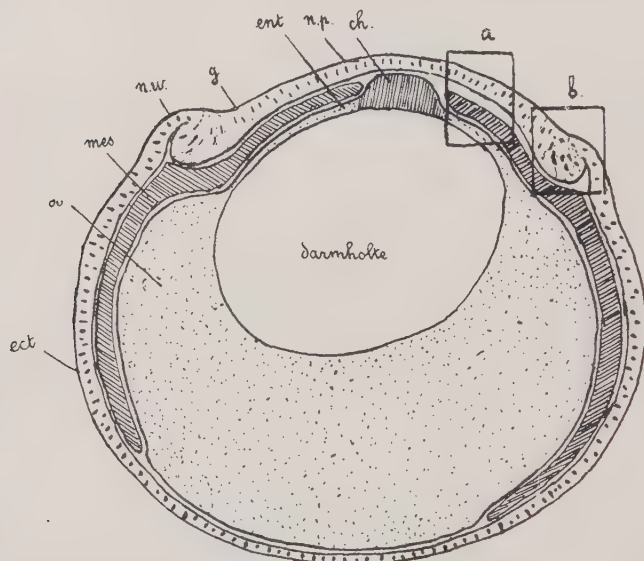


Fig. 3. Dwarsnede van een ei van Axolotl, waar de wallen juist zichtbaar zijn geworden.

ect. ectoderm; *mes.* mesoderm; *ent.* entoderm; *ch.* chorda;
n.p. neuraalplaat; *g.* laterale medullairsleuf; *nw.* neuraal-
 wal; *do.* dooier.

ombuigende deel van de neuraalplaat zijn de cellen geworden tot zeer hooge en slanke protoplasmazuilen. Ze hebben hier den vorm van wiggen, de smalle zijden alle naar de laterale medullairsleuf gericht (fig. 4*b*). De protoplasmazuilen zijn verder niet recht, maar ge-

bogen in het dwarse vlak. Hun spitse einden beginnen loodrecht op het oppervlak van de plaat, maar verder naar binnen buigen de zuilen om naar lateraal, ten slotte zelfs weer naar dorsaal, n.l. de meest laterale. De rangschikking van de kernen is evenzoo. De kernen, die in de neuraalplaat ongeveer door de heele dikte verspreid liggen, liggen hier meer in een dieper niveau. Ook aan den vorm van de kernen is een verschil op te merken in het nog niet en in het reeds krullende deel van de neuraalplaat. In het nog niet krullende deel van de neuraalplaat, dat dus nog convex naar buiten is, zijn dicht bij het mediaanvlak de kernen plomp en dik. Hun lengteas is loodrecht op het oppervlak gericht. Hoe meer lateraal men in de plaat komt, hoe meer de kernen een slankeren vorm aannemen. In het krommende deel van de plaat, waar dus de cellen zeer hoog en slank en wigvormig zijn, zijn de kernen uiterst slank en ook iets wigvormig; naar het laterale uiteinde van de plaat worden de kernen weer korter en dikker (fig. 4 *a* en *b*). In het nog naar buiten convexedeel van de plaat, vindt men enkele zeer groote, ronde kernen. In het krullende deel zijn deze zeldzamer en liggen dan in de meest excentrische laag van de krul. Mitosen ziet men vooral in de oppervlakkige laag van het nog ongekromde deel en in de geheele dikte van het krullende deel.

Een beschrijving van een dergelijke structuur vind ik bij andere schrijvers niet opgegeven. Waarschijnlijk vindt dit zijn oorzaak in het feit, dat men beelden als in fig. 4 slechts in enkele coupes van de serie vindt, n.l. in die, waar het sneevlak is gegaan evenwijdig aan de cellen van de neuraalplaat. Neemt men de snijrichting anders, maar wel loodrecht op het mediaanvlak, dan

vindt men ook op een andere plaats (meer naar voren of naar achteren) dergelijke figuren. In elke serie van dwarse coupes zijn enkele sneden, die een dergelijke structuur vertoonen. In de andere coupes, waar dus het mes de cellen niet in haar lengterichting raakte, maar scheef of dwars, lijkt de neuraalplaat en vooral het deel, dat krult, uitmeer dan één cellaag te bestaan.

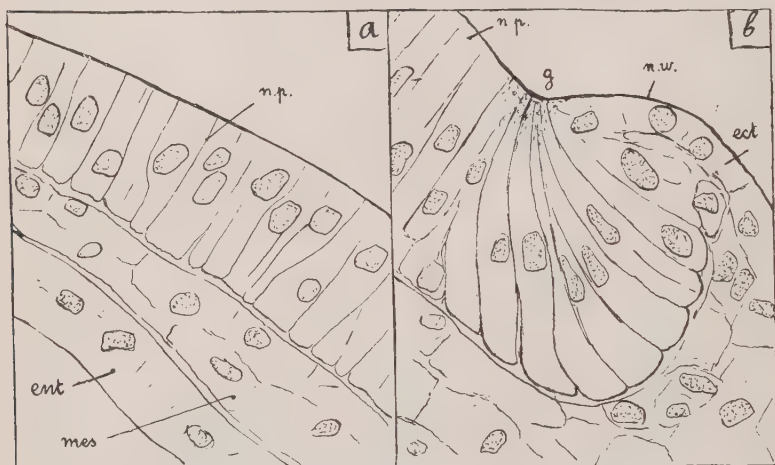


Fig. 4. Axolotl. Sterke vergrooting van deelen der neuraalplaat van fig. 3.

- a.* een deel van de rechterhelft der neuraalplaat dicht bij het mediaanvlak (zie fig. 3).
b. het krullende deel van de rechterhelft der neuraalplaat (zie fig. 3).

ect. ectoderm; *mes.* mesoderm; *ent.* entoderm; *n.p.* neuraalplaat; *g.* laterale medullairsleuf; *n.w.* neuraalwal.

Daar de kernen naar een dieper niveau zijn verschoven, *schijnt* het dan, alsof er meer cellen zijn gelegen in de excentrische laag van het krullende plaatdeel. Waarschijnlijk heeft dit b.v. LEHMANN (21) gebracht op het idee, dat er bij het krommen een celverschuiving plaats had naar de diepere lagen. De kernen zijn in deze

coupes meer dwars geraakt, op doorsnee echter overal kleiner in het wèl, dan in het nog niet krullende deel van de plaat (te verklaren uit het slanker worden der kernen). LEHMANN spreekt van een radiaire plaatsing van de elementen van de neuraalplaat in het laterale deel, n.l. van de kernen, de pigmentstrepen en de dooierplaatjes. Bij Axolotl vooral is dit niet zuiver radiaal, dus volgens rechte lijnen, maar volgens gebogen lijnen, uitgaande van de laterale medullairsleuf naar binnen en dan ombuigende naar lateraal. Het pigment is in de laterale deelen van de plaat rijkelijker aanwezig dan in de mediale en vooral sterk in de oppervlakkige lagen. Het meeste pigment ziet men in de laag, die den bodem vormt van de laterale medullairsleuf.

Bij Tritoneieren, die kleiner zijn dan de Axolotleieren en ook uit kleinere cellen bestaan, vindt men dergelijke structuurbeelden als boven beschreven. Alleen treedt de verdikking van de geheele plaat reeds in een jonger stadium op (n.l. bij zich juist verheffende neuraalwallen) dan bij Axolotl. De celvormverandering en kernvormverandering is bij beide dieren gelijk.

Bij beide dieren blijkt bij de steeds verder mediaal krullende neuraalplaat de cel- en vormverandering steeds meer mediaal op te treden. Vóór de omkrulling begon dus reeds een dikker worden van dat deel van de plaat en een iets slanker worden van de kernen.

In alle stadiën van kromming der neuraalplaat blijkt nu steeds met de omkrulling gepaard te gaan (fig. 3, 4 en 5):

1. een sterke verdikking van de plaat ter plaatse van de kromming.
2. het protoplasma van de cellen wordt tot smalle,

hooge, wigvormige zuilen; de smalle uiteinden liggen aan de laterale medullairsleuf.

3. een zeer slank worden van de kernen.

4. de meeste kernen (niet de cellen) komen verder van de oppervlakte van de neuriaalplaat verwijderd te liggen.

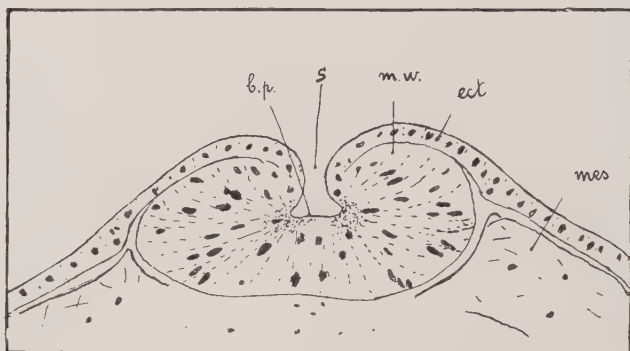


Fig. 5. Dwarse doorsnede van een Axolotl-ei, waar de wallen elkaar reeds dicht zijn genaderd.

ect. ectoderm; *mes.* mesoderm; *b.p.* bodemplaat; *s.* sleuf, waardoor men nog op de bodemplaat ziet; *m.w.* medullairwal.

5. het protoplasma (evenals de kernen en het pigment) rangschikt zich volgens lijnen, die loodrecht uitgaan van het oppervlak in de laterale medullairsleuf en zich later ombuigen naar lateraal.

6. het sterker optreden van pigment, vooral in de laterale medullairsleuf.

HOOFDSTUK II.

DE DYNAMICA VAN HET SLUITEN DER NEURAALBUIS.

Om te komen tot de oplossing der vraag: Welke krachten veroorzaken de sluiting van de neuraalplaat tot neuraalbuis?, dienen we na te gaan al de krachten, die mogelijk de sluiting zouden kunnen veroorzaken. Uit de macroscopische en microscopische beelden van sluitingen bij normaal zich ontwikkelende dieren dienen we de feiten, die voor een bepaalde kracht pleiten, zorgvuldig af te lezen. En waar het niet gelukt om uit het morphologische beeld van het normale tot een conclusie te komen over de, den vorm beheerschende, krachten, kunnen we het experiment te hulp roepen.

Wanneer we de neuraalplaat vergelijken met een levenlooze plaat, is het niet moeilijk om de krachten op te zoeken, die de sluiting mogelijkerwijs zouden kunnen bewerkstelligen. Dit is eenerzijds een druk van de omgeving in die richting, dat een ombuiging van de plaat naar buiten en mediaal optreedt, anderzijds zou de buiging kunnen optreden door een trek naar binnen van het mediane gedeelte.

De druk naar buiten en mediaal zou veroorzaakt moeten worden door het ectoderm. In het morphologische beeld pleit hiervoor het feit, dat de krulling optreedt het eerst in het laterale deel van de neuraalplaat. Het is alsof deze als een vloerkleed van lateraal af zal worden opgerold. Verschillende onderzoekers schrijven

het ectoderm dan ook een belangrijken invloed toe op de krulling van de neuraalplaat (RUFFINI (30), GIERSEBERG (11)). GIERSEBERG trachtte het bij *Rana* te bewijzen, door de ontwikkeling te laten geschieden in een rietsuikeroplossing. Aan deze oplossing schreef hij toe een invloed op de cellen of de door haar uitgescheiden kitsubstantie, waardoor de neuraalplaat in haar geheel minder elastisch werd. Ook zou de oplossing een zoodanigen invloed hebben op de functies van de cellen, dat de cellen haar activiteit verliezen en men dus de neuraalplaat in haar geheel kan beschouwen als een passief lichaam. Hij zag nu bij deze experimenten, dat de neuraalplaat zich niet omkrulde als normaal, maar dat zij, in 't midden inknikkend, als een boek werd dichtgeklapt, blijkbaar door druk van het ectoderm.

Dit bewijst echter m.i. volstrekt niet, dat ook in de normale ontwikkeling het ectoderm een zoodanige functie heeft. Immers veronderstelt men eens, dat de neuraalbuis door eigen krachten zich kromt en dat het ectoderm hiermede evenredig snel zich uitbreidt, dan is het zeer wel denkbaar, dat beide platen, neuraalplaat en ectoderm, volkomen spanningsloos naast elkaar groeien, maar dat, zoodra die evenredigheid in groei verstoord is, er wel een spanning zal optreden. Wanneer namelijk door een bepaalde behandeling de neuraalplaat star is gemaakt, zal het ectoderm niet meer als normaal naar mediaal kunnen groeien, maar moet het nu een weerstand overwinnen, m. a. w. een druk uitoefenen op het laterale deel van de neuraalplaat. Een samenklappen laat zich aldus verklaren. Een dergelijke spanning behoeft echter met het normale niets te maken te hebben.

De invloed van het ectoderm is verder door GIERBERG nagegaan door omsnijding van stukken uit de plaat, terwijl deze deelen dan op de onderlaag bleven zitten. De invloed van het ectoderm bewees zich hier echter bij *Rana* en nog meer bij *Triton*, als niet groot. De deelen neuraalplaat, gescheiden van het ectoderm door een snede, krulden zich, wanneer eenmaal wallen waren opgetreden, wel verder. GIERBERG deed hier nog eenige waarnemingen bij verschillende plaatsing van de sneden, waaruit bleek, dat wanneer de wallen waren weggenomen bij *Triton*, het bijbehorende omsneden deel van de neuraalplaat niet krulde. Echter heeft de geheele methode van de isoleering van deelen van de neuraalplaat door omsnijding dit groote bezwaar, dat de neuraalplaatdeelen omgeven zijn door open wonden. Deze wonden staan vrij breed open en het omgevende medium, waarin het dier leeft, kan binnendringen tot cellen, waar het anders ver van verwijderd bleef. Hoe dit werkt, weten we niet, maar het kan invloed hebben op de cellen, die aan de aanraking met dit medium niet gewend zijn. Bv. kunnen zwellingen optreden van de cellen, op de wijze, waarop ook zwelling optreedt van roode bloedlichaampjes in hypotonische zoutoplossingen. Zwellingen geven andere spanningsverhoudingen, die de neurulatie zouden moeten beïnvloeden. Verder: hoe werkt hier de wondgenezing?!

Ook RUFFINI (30) schrijft het ectoderm een belangrijke rol toe bij het sluiten van de neuraalplaat. Zijn meening over de sluiting is origineel en interessant genoeg om hier iets uitvoeriger vermeld te worden. Hij schrijft de cellen van de neuraalplaat amoeboïde bewegingen en een secretorische functie toe. Hij beschrijft bij amphibiën in de omslagplooiën spitse cellen, die

volgens hem zullen groeien van de oppervlakkige lagen naar diepere. Daardoor treden dus op het embryo sleuven op. Daar ook de geheele neuraalplaat dieper zinkt in het embryo, wordt nu de plaat begrensd door een sleuf en daaromheen bevindt zich de neurawal. Deze ontstaat dus niet als een verheffing van de plaat maar door de inzinking van de plaat ten opzichte van het ectoderm. Zijn de wallen eenmaal zoo gevormd, dan ontstaat verder de sluiting door zijdelingschen druk, in casu druk van het ectoderm. Is de neuraalbuis aldus gesloten, dan heeft het lumen nog niet den vorm, dien het later heeft. RUFFINI vond bij bepaalde kleurmethode korrels in de cellen van de neuraalplaat, vooral aan den kant, die aan de buitenwereld grenst. Nergens vond hij in andere cellen van het embryo deze korrels. Verder vond hij in de praeparaten coagula op de neuraalplaat, welke zich door bepaalde kleurmethode lieten kleuren. Uit deze twee feiten besloot hij tot een secretorische functie van de neuraalplaatcellen. Deze secretie speelt volgens RUFFINI een rol bij het ontstaan van den normalen vorm van de juist gesloten neuraalbuis. Na de sluiting treedt deze secretie sterker op, waardoor er in de neuraalbuis een druk gaat heerschen; deze doet het eerst meer spleetvormige lumen in een meer rond overgaan.

Evenwel ziet men in coupes van Urodelenembryonen, dat de wallen wel verheffingen zijn, gevormd door het omhoogkrullen van het laterale deel van de neuraalplaat en door het aangrenzende ectoderm. De neurawallen zijn lateraal immers begrensd door sleuven, hoewel deze hier minder duidelijk zijn dan aan den medialen kant van de wallen.

Ook aan uitgesneden neuraalplaten heeft men de

sluiting bestudeerd. ROUX (29) sneed de neuraalplaat uit bij een kipembryo en zag, dat de sluiting hier nog sneller optrad, dan bij het normale individu in situ. GIERSBERG (11) bracht uitgesneden neuraalplaten van *Rana* in twee à driemaal verdund kikker serum en bestudeerde deze één à twee dagen in een vochtig kamertje, waarna ze in coupes werden gesneden. Hij zag, dat de plaat den vorm aannam van twee convexe helften, gescheiden door de mediane sleuf. Een normale ombuiging trad niet op, maar wel zag hij de cellen uit het laterale deel van de plaat uit haar verband treden en over de oppervlakte glijden naar mediaal. De cellen van links en van rechts ontmoetten elkaar in het mediaanvlak en op deze wijze ontstond dus toch nog een soort sluiting van de plaat. Dit naar elkaar toegroeien van de randcellen verklaart GIERSBERG door aan te nemen, dat de neuraalplaatcellen een chemotaktisch werkende stof uitscheiden, die de sluiting van de neuraalwallen bewerkstelligt. Bij *Rana* stelt hij zich de sluiting aldus voor: druk van het ectoderm veroorzaakt het ontstaan van wallen, het naar elkaar toegroeien van de wallen geschiedt nu verder door druk van het ectoderm en door de „Tendenz des Zuwachsens” der neuraalwalcellen. Bij *Triton* zou volgens GIERSBERG de invloed van het ectoderm geringer zijn dan bij *Rana*.

Dergelijke proeven deed GIERSBERG door de uitgesneden neuraalplaat niet te brengen in vrij serum, maar in de buikholte van een ander embryo. Dit gaf dergelijke uitkomsten als in vitro.

Echter hebben deze experimenten alle dit groote bezwaar, dat de neuraalplaat komt in zeer onnatuurlijke omstandigheden. Omstandigheden, waarvan we den

invloed niet voldoende kunnen nagaan om hun aandeel bij de ons interesseerende processen in rekening te kunnen brengen. Eén kant van de neuraalplaat komt nu namelijk in aanraking met een medium, waaraan het tevoren niet blootgesteld was, nl. zoutsolutie of een verdunde serumvloeistof. Wanneer hierdoor veranderde zwellingsstoestanden zouden optreden van het celprotoplasma in de neuraalplaat, wat zéér waarschijnlijk is, dan zouden hierdoor, sterker nog dan door omsnijdingen alleen (zie boven), verschillen in de spanningen optreden, die normaal heerschen en een invloed op de sluiting van de plaat zou aldus moeten ontstaan. Ook wanneer normaal de kromming van de buis volkomen passief zou geschieden, zou b.v. bij een zwelling van de diepste laag van de uitgesneden neuraalplaat tengevolge van de vreemde omgeving in dit experiment een kromming van de neuraalplaat nu actief optreden (vergelijk het model van SPEK (32)), (zie blz. 53).

Uit deze experimenten zijn conclusies, welke gelden voor het normale, slechts met de uiterste voorzichtigheid te trekken.

Over 't algemeen schrijven de meeste onderzoekers het ectoderm een meer of minder belangrijke rol toe bij het sluiten. Alleen ROUX (27) geeft reeds in zijn eerste publicaties over experimenteele embryologie in het algemeen (1885) als zijn meening, dat de sluiting van de neuraalplaat geschiedt door krachten in de plaat zelf. Als bewijs voert hij de uitkomsten aan van de volgende experimenten:

1. De neuraalplaat werd uitgesneden. De wallen bleven bestaan en vielen niet plat, werden niet verstreken. Ze staan dus niet onder spanning van de omgeving concludeert Roux.

2. Roux sneed de neuraalplaat uit met het aangrenzende ectoderm. Door zijdelingschen druk op het ectoderm plooide dit zich wèl, maar de neuraalplaat niet, vóór dat de druk zoo groot was, dat het ectoderm dubbelgeslagen was en de druk dus nu direct op de neuraalplaat zelf werd uitgeoefend.

3. Wanneer de plaat op het embryo werd omsneden, dus de druk van het ectoderm werd uitgeschakeld, boog zich de plaat om tot een normale neuraalbuis.

Ofschoon deze experimenten bezwaren aankleven als boven besproken, leveren ze toch een bijdrage tot het bewijs, dat de neuraalplaat zichzelf actief sluit tot buis. Roux spreekt van „Selbstschluss des Neuralrohres”.

Wanneer Roux een embryonale plaat, bestaande uit cellen, ziet krommen door eigen energie, spreekt hij van „Selbstbiegung”. Dit moet natuurlijk een gevolg zijn van een verdere differentiatie van de cellen, die de plaat vormen. Roux spreekt hier van „Selbstdifferenzierung”.

De sluiting van de neuraalbuis beschouwt Roux dus als een „Selbstbiegung” tengevolge van een „Selbstdifferenzierung” der cellen in de plaat.

In de terminologie van Roux zou dus de sluiting, zooals velen aannemen, tengevolge van oorzaken buiten de plaat gelegen, b.v. een druk van het ectoderm, een voorbeeld zijn van een „correlative Differenzierung”. Dit laatste zou dus, in tegenstelling met de eerste mogelijkheid, geschieden door energie, afkomstig van buiten de neuraalplaat.

Ofschoon Roux overtuigd is van de sluiting der neuraalplaat door eigen energie, gelukt het hem niet deze energie, of de wijze waarop ze werkt, nader te bepalen. Wel wijst hij een reeks van mogelijkheden

aan, die de sluiting zouden kunnen bewerkstelligen.

„ . . . so kann die Biegung stattfinden durch Vergrößerung der Platte bloß auf einer Flächenseite; diese Vergrößerung kann durch bloßes Wachsthum der Zellen, oder durch Vermehrung der Zellen verbunden mit Wachsthum, oder durch Hinwanderung von Zellen gegen und zwischen die anderen Zellen, ferner durch bloße aktive Ausbreitung der Zellen in den Richtungen der Fläche erfolgen”, (1897 Roux (29)).

Welke van deze mogelijkheden, alléén of meer of minder in aanmerking komt, laat ROUX geheel in het midden.

LEHMANN (21) echter beschrijft hoe bij Triton met de kromming van de plaat gepaard gaat een naar dieper niveau verschuiven van de cellen en hoewel hij er niet op ingaat, zou dit dus een oorzaak van de buiging kunnen zijn in den zin van één van de door ROUX veronderstelde mogelijkheden.

Wanneer ik nu de gegevens en hypothesen uit de litteratuur, welke boven vermeld is, toets aan mijn eigen praeparaten, kom ik aan de hand van het morphologische beeld van het normale alléén niet tot een beslist antwoord op de vraag: Ligt de oorzaak van de sluiting binnen de plaat zelf of daarbuiten? „Selbstdifferenzierung” of „correlative Differenzierung”?

Voor druk op de neuraalplaat van lateraal naar mediaal schijnt veel te pleiten. Wanneer namelijk het ectoderm een druk zal uitoefenen op de neuraalplaat, welke in haar laterale deel dikker is dan het ectoderm, dan zal de druk van het ectoderm aangrijpen op de plaats, waar het ectoderm aan de neuraalplaat grenst, m. a. w. op de oppervlakkigste laag van de neuraalplaat.

Op de neuraalplaat zal dus een kracht werken van

lateraal naar mediaal en deze kracht is het grootst in de oppervlakkigste laag. De cellen, die de neuraalplaat vormen, ondervinden dus een druk, welke het grootst is aan het uiteinde, dat gekeerd is naar de buitenwereld. Het zou denkbaar zijn, dat de cellen, als elastische lichamen, vormveranderingen ondergaan tengevolge van deze drukwerkingen. Ze zullen dus in medio-laterale afmeting moeten afnemen en wel vooral daar, waar de kracht het grootst is, dus aan den kant van de oppervlakte. Waar de medio-laterale afmeting afneemt en het volumen gelijk blijft, moet dus de dorso-ventrale afmeting toenemen. M. a. w. de cellen moeten worden tot lange, wigvormige zuilen. De kernen, welke aan dezelfde drukverhoudingen blootstaan, ondergaan dezelfde vormverandering als de cellen; ze worden slanker, langer in dorso-ventrale richting en wigvormig. Door den lateralen druk zou dus een krulling van de plaat mogelijk zijn, als de druk de cellen aldus kan veranderen. Welnu, in mijn praeparaten ziet men cellen in de omslagplooi (en hier is de druk van lateraal immers uit de eerste hand; hier begint dus de vormverandering) juist dien vorm hebben, dien ze zouden moeten bezitten, wanneer, zooals ik boven heb afgeleid, de omkrulling van de plaat geschiedt door druk van de omgeving op de plaat in latero-mediale richting. Uit het morphologische beeld is dus de veronderstelling van een zijdelingschen druk, dus b.v. van het ectoderm, zéér wel mogelijk.

Ik wil in dit verband wijzen op het model van RHUMBLER (25). Weliswaar betreft dit niet het sluiten van de neuraalbuis, maar de instulping van de gastrula. De principes hiervan laten zich echter op het sluiten van de neuraalbuis zeer goed overdragen.

Het model van RHUMBLER bestaat uit een aantal ovalen, welke gemaakt zijn van elastische baleinen. Deze zijn in een kring bevestigd op een ijzeren staaf (fig. 6 *a*). Wanneer deze staaf tot een cirkel is gebogen, geeft het model ongeveer den vorm weer van een blastula, of beter van de doorsnede van een blastula. De ovalen stellen de cellen voor. Deze cellen ziet men aan het model duidelijk iets wigvormig, met de spitse uiteinden naar binnen.

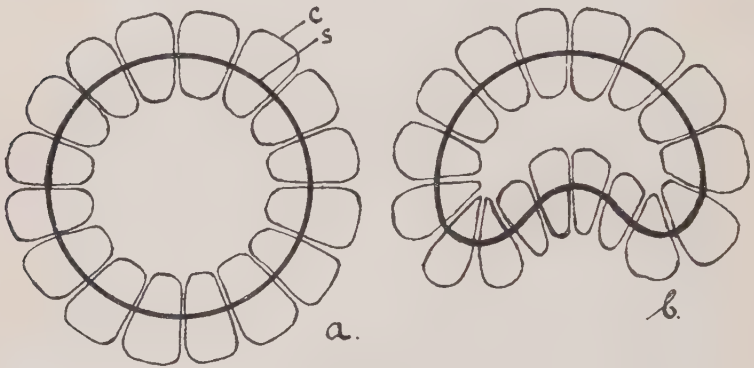


Fig. 6. Model van Rhumbler.

a. blastula; *b.* gastrula; *s.* ijzeren staaf, waarop de baleinen celvormen *c* bevestigd zijn.

Wanneer nu aan de ijzeren staaf een vorm gegeven wordt als in fig. 6 *b*, dan heeft het model ongeveer den vorm van een gastrula als bij *Amphioxus*. Aan den celvorm is nu echter een belangrijke verandering opgetreden. Het niet ingestulpte deel heeft nog celvormen als tevoren. Aan het ingestulpte deel hebben de cellen echter een wigvorm gekregen met den smallen kant naar buiten; dus in de cellen is een omkeering van den wigvorm opgetreden. Deze celvormverandering was een gevolg van de vormverandering van de staaf

m. a. w. de celvormverandering geschiedt passief. Zoo zou men zich ook zeer goed de celvormverandering van de omkrullende neuraalplaat kunnen voorstellen. De celvorm van het ectoderm is cylindrisch, denkbaar zelfs iets wigvormig met de punt naar binnen. In het krullende deel van de neuraalplaat is de wigvorm duidelijker, maar omgekeerd, dus de spitse kant naar buiten (fig. 4 b).

Toch leert het model van RHUMBLER ons niet, dat ook inderdaad de instulping door oorzaken buiten het instulpende deel tot stand komt en de cellen dus passief van vorm veranderen. Want wanneer men omgekeerd aan het model de cellen den vorm geeft als in fig. 6 b, treedt tengevolge hiervan ook de kromming van de staaf naar binnen op. M. a. w. wanneer een deel der cellen actief haar wigvorm omkeert, volgt hierop een instulping van dat deel van de cellenrij.

Het model van RHUMBLER leert ons over de instulping niets anders, dan dat met de instulping van de blastula gepaard gaat de beschreven celvormverandering. Op de vraag, welke van beiden, instulping of celvormverandering, primair is, kan het geen antwoord geven.

Evenzoo kunnen we bij de neuraalplaat ons voorstellen, zooals reeds besproken is, dat de kromming door oorzaken buiten de plaat den bepaalden celvorm in mijn praeparaten kan doen ontstaan. Omgekeerd echter, wanneer de cellen van de neuraalplaat door eigen energie haar vorm veranderen in wiggen met de punt naar buiten, moet er optreden een kromming van de neuraalplaat met de concaviteit naar buiten.

Noch de bestudeering van het morphologische beeld bij het zich normaal ontwikkelende individu, noch het

model van RHUMBLER, noch de in de litteratuur beschreven experimenten geven dus een bewijs van de heerschende krachten bij het sluiten van de neuraalbuis.

LEHMANN (21), die de radiaire rangschikking van de kernen in het zich krommende deel van de neuraalplaat bespreekt, zegt letterlijk:

„Es fällt nun auf, dasz während der Embryonalentwicklung zu verschiedenen Zeiten die Zellkerne sich in jeder Beziehung ganz charakteristisch verhalten, so dasz man leicht zu der Ansicht gelangen kann, das Verhalten der Kerne spiegelte direkt die Entwicklungsmechanischen Vorgänge wieder, die sich in den betreffenden Territorien abspielen. Diese sehr suggestive und sehr naheliegende Annahme musz aber mit grosser Vorsicht geprüft werden, da bis jetzt kaum experimentelle Daten darüber vorliegen. Die Ableitung von Druckwirkungen aus der Form der Zellen scheint heute noch sehr gewagt, da voraussichtlich eine ganze Reihe physikalisch-chemischer Faktoren für die Zellform bestimmend sein dürfte”.

Hij aarzelt dus een passieve celvormverandering aan te nemen. Roux (29) constateert niet, maar veronderstelt o.a. de mogelijkheid van een actieve celvormverandering in de zich krullende neuraalplaat, welke de oorzaak van de kromming is. De juistheid van deze laatste veronderstelling moge mede uit mijn experimenten blijken.

Deze experimenten bestonden in de bestudeering van uitgesneden deelen van de neuraalplaat, welke uit hun omgeving waren gebracht. Er is echter naar gestreefd om de omstandigheden, waarin de plaat gebracht werd, zoo weinig mogelijk van de normale te laten verschillen, om geen factoren in het spel te krijgen, die niet nage-

gaan konden worden en die juiste conclusies dus onmogelijk maakten. Studies van uitgesneden neuraalplaten in zoutsoluties of in sera zijn derhalve niet gedaan. Het experiment bestond uit het transplanteren van neuraalplaatdeelen; getransplanteerd werd in het ectoderm van een ander evenoud embryo. Ook dit laatste, het evenoud zijn van het dier, dat het transplantaat leverde en den gastheer is een noodzakelijkheid. Immers, in een groeiend embryo treden belangrijke veranderingen op. Een transplantaat in een ouder dier komt dus mogelijk in een vreemde omgeving, die ook haar invloed zou kunnen doen gelden. Ik wijs b.v. op de verandering van den zuurgraad, die in de cellen van een groeiend embryo optreedt (BUYTENDIJK en WOERDEMAN (6)). Ongetwijfeld treden bij een groeiend embryo nog andere veranderingen in de cellen op. Transplantatie op dieren van een anderen leeftijd houdt dus de mogelijkheid in, dat men factoren schept, wier invloed op het transplantaat men niet kan nagaan. Conclusies hieruit zouden dus niet gerechtigd zijn.

Na mijn bezwaar (blz. 17) tegen het omsnijden van neuraalplaatdeelen, zooals GIERSEBERG dit deed, zal men mij tegenwerpen, dat toch ook bij transplantaties er cellen zijn, die in de vreemde omgeving van het buitenwater komen, zij het dan ook maar een kort oogenblik. Echter is bij transplantaties als hier de invloed van dit water reeds voorbij, wanneer de kromming optreedt, immers het transplantaat groeit in als een vlakke plaat.

Aan de vloeistof, waarin de gastheer zich verder ontwikkelt, was niets veranderd, noch wat de chemische samenstelling, noch wat de temperatuur betreft.

Zoo kon dus aan het transplantaat zuiver worden

bestudeerd de invloed van de verandering van de hem omgevende weefsels.

Komt het sluiten van de neuraalbuis tot stand door een mechanischen invloed van haar omgeving, dan komen slechts drie weefsels in aanmerking, daar de neuraalplaat slechts aan drie weefsels grenst, nl. het ectoderm, het mesoderm en de chorda. Is te bewijzen, dat hiervan geen invloed uitgaat, dan dient men de oorzaak van de kromming in de plaat zelf te zoeken.

HOOFDSTUK III.

DE TECHNIEK VAN HET EXPERIMENT.

Wanneer men in het voorjaar eenige paren van *Triton taeniatus* in een aquarium brengt, waarin zich waterplanten bevinden, worden weldra overvloedig eieren afgezet. Deze eitjes bevinden zich in een geleidachtig omhulsel, met behulp waarvan ze aan den onderkant der bladeren van de waterplanten worden opgehangen. Men kan deze eieren reeds in het één- of tweecellig stadium verzamelen en ze in leidingwater bewaren, totdat ze het voor de operatie gewenschte stadium bereikt hebben.

In tegenstelling met *Triton*, is men bij *Axolotl* niet gebonden aan het seizoen, daar men het afzetten van eieren kunstmatig kan bewerkstelligen. De dieren worden hiertoe eenige maanden afzonderlijk gehouden in bakken, waarin zich zooveel leidingwater bevindt, dat de oppervlakte ± 15 c.M. boven de op den bodem liggende *Axolotl* staat. Zoo houdt men het water en dus ook de dieren op kamertemperatuur. Wenscht men nu eieren, dan brengt men een paar *Axolotls* in een grooter aquarium samen, waar het stroomende water minstens 40 c.M. boven de *Axolotls* staat en minstens 5° C. kouder is dan het water in de kleine bakken. Na een paar dagen zet het mannetje nu meestal spermatophoren af, kegelvormige slijmtorentjes, waarop

een wit knopje, dat uit spermatozoën bestaat. De taak van het mannetje is hiermede afgeloopen en ook interesse voor wat verder volgt; vertoont het niet. Het wijfje laat zich op de zaadkegels neer en neemt de spermatozoën op in haar cloaca. Eén à twee dagen later begint de afzetting van eieren. Het wijfje klimt in de takken van de waterplanten; met de achterpooten grijpt het een tak aan en drukt de opening van de cloaca ertegen. Met korte tusschenpoozen slipt een eitje naar buiten en blijft aan den tak kleven. Soms één, soms twee eieren, soms ook wel lange slierten van eieren worden afgezet. Het laagje gelei eromheen zwelt sterk op en wordt een dikke, beschermende mantel. Zoo worden soms één à tweehonderd bevruchte eieren afgezet. De eitjes zijn in het ééncellig stadium. Ze vertoon een donker gepigmenteerde bovenhelft, de animale pool en een witte onderhelft, de vegetatieve pool. Steeds is de animale pool boven. Draait men het geleihulsel om, dan keert zich het ei in zijn omhulling toch weer zoo, dat de animale pool boven komt.

De eieren worden in kleine bakjes met gefiltreerd leidingwater (door een kaars van CHAMBERLAND-PASTEUR) verzameld en van hun hulsels ontdaan. De gelei wordt er grootendeels afgeknipt; hierna blijft een tweede geleimantel over, die vrij dik is en steviger dan de eerste mantel. De tweede laag gelei is van het ei gescheiden door een heldere zone. Onder het binoculair microscoop wordt door deze zone een fijne metalen naald gestoken en daarna met een fijn lancet er snel langs gesneden. Door de ontstane opening springt het ei naar buiten. Ook kan men de binnenste laag van het geleihulsel met twee fijne pincetten beetpakken en kapot scheuren. Dit geschiedt ook onder het binoculair

microscop. Het ei is nu nog slechts omgeven door een dun vliesje, het dooiervliesje, dat bijna onzichtbaar is en alleen bij bepaalde belichting opvalt. De eieren worden zoo bewaard in een glazen bakje, op welks bodem een plaatje cellophaan ligt, totdat het voor de operatie geschikte oogenblik is aangebroken. Dit oogenblik is gekomen, wanneer de gastrula juist haar neuraalplaat begint te vertoonen.

Vervolgens wordt een ei met behulp van een pipet gebracht in steriel leidingwater, daarna nog eens in ander steriel leidingwater en nog eens, om zooveel mogelijk micro-organismen (schimmels, protozoën en bacteriën) van het dooiervliesje te verwijderen. Nu komt het ei in het operatiebakje. Dit is een houten bakje met een bodem van was. In deze was zijn twee ondiepe putjes gemaakt, waarin juist een ei past. Het bakje is gevuld met 0,2 % oplossing van keukenzout in gedistilleerd water. Hierin worden twee eieren gebracht. Met behulp van fijne pincetten wordt het dooiervliesje verwijderd, waarna de nu uiterst teere larve met haar ectoderm bloot ligt. Zij wordt in een kuiltje in de was geschoven, waarna de eigenlijke operatie begint.

De larve, welke nu ter verdere bewerking klaar ligt, vertoont juist haar neuraalwallen; de neuraalplaat is uiterst breed en vertoont juist het begin van het ontstaan van de achtvormige figuur. In dit stadium vertoonen de cellen van de neuraalplaat nog vrijwel geen verschil met het overige ectoderm, alleen in de wallen is een verdikking van de plaat naar binnen opgetreden. Ook zijn de kernen hier langer en ongeveer radiaal gerangschikt (zie blz. 11). Het mesoderm begint lateraal van de chorda, wordt meer naar lateraal

dikker, is onmiddellijk lateraal van den neuraalwal het dikst en strekt zich, zich weer verdunnend, om een groot deel van het embryo uit. Alleen ventraal is een strook, waar het mesoderm nog ontbreekt. Hier is ook het ectoderm dunner dan meer lateraal. Het mesoderm vertoont een uitsteekseltje aan den lateralen wand, dat indringt in den recessus tusschen de neuraalplaat en het aangrenzende ectoderm. Het mesoderm bestaat in het laterale deel duidelijk uit twee lagen, waartusschen geen holte. Segmentatie is nog niet zichtbaar. De chorda is een soliede, breede celmassa, innig met ectoderm en neuraalplaat verbonden.

Het was nu de bedoeling om deelen van de neuraalplaat uit te snijden en op een andere plaats weer in het ectoderm in te planten. Daar de larve door de excisie veel leed, hetzij spoedig stierf, hetzij abnorm verder groeide, bleek het beter te zijn, om het explantaat te transplanteren in het ectoderm van een ander individu.

Daarom waren in den wasbodem van het operatieschaaltje twee putjes gemaakt en werden twee larven in het schaalje klaargelegd. De larve, liggend in een kuiltje van den wasbodem, wordt vastgehouden met fijne haarlissen, welke zijn vastgekleefd in uiterst dun uitgetrokken glazen buisjes. De sneden worden aangebracht met glasnaalden, welke zoo fijn mogelijk zijn uitgetrokken. Met de punt van een naald wordt het ectoderm doorstoken en daarna wordt de naald voortgeschoven tusschen het ectoderm en het mesoderm of chorda. Op de gewenschte plaats wordt de punt van de naald weer naar buiten gestooten en de naald iets opgelicht. De geheele larve hangt nu aan het ectoderm, dat boven de naald ligt. Hierop wordt met de haarlis

voorzichtig gedrukt, waardoor de naald langzaam door het ectoderm heensnijdt. De oppervlakte van de larve vertoont nu een gapende wonde met gladde randen.

Door vier soortgelijke sneden kan men dus een vierhoekig stuk neuraalplaat omsnijden. Deze lap wordt nu met behulp van de lis en de naald uit zijn bed gerold en op een wonde van het tweede individu neergelegd, uit welks buikhelft op een dergelijke wijze een vierhoekig stuk ectoderm gesneden is van zoodanige afmetingen, dat het uitgesneden stuk neuraalplaat er juist in past. Dit stuk neuraalplaat heeft dikwijls neiging tot krullen (in den zin van de latere sluiting) en valt dus gauw weer uit de wonde. Om dit te voorkomen, wordt een strookje dekglas, dat boven de vlam is kromgebogen, over de larve gelegd en er zoodanig tegenaan geschoven, dat het het transplantaat goed op zijn plaats houdt. De 0,2 % zoutoplossing wordt nu geleidelijk vervangen door steriel leidingwater. Na een half uur is het transplantaat meestal ingegroeid en kan de glasbrug worden verwijderd. Soms komen nog door een defect in den naad wat witte dooiercellen naar buiten, maar dit houdt meestal spoedig op. In glazen bakjes met cellophaan op den bodem worden de larven, welke vóór en na de operatie met het teekenprisma geteekend zijn, verder bewaard.

De sluiting van de neuraalplaat gaat bij de geopeerde larve normaal door, ook het transplantaat sluit zich tot buis en zinkt onder het ectoderm. Wanneer de larven zich zoover ontwikkeld hebben, dat reeds duidelijk lobben op den kieuwaanleg komen, worden ze gefixeerd in de vloeistof van LENHOSSÈK, ingesloten volgens de methode van PÉTERFI met benzoas-methylicus-celloïdine en paraffine en gesneden met een

sleemicrotoom in coupes van 10 of 15 micra. Daarna worden de coupes gekleurd met haematoxyline-eosine; een meer bijzondere kleuring is hier niet noodig en ook ten deele nutteloos, daar de weefsels nog te weinig gedifferentieerd zijn, om reeds belangrijke verschillen bij kleuringen aan te geven.

De sterfte onder de geopereerde larven is vrij aanzienlijk. Sinds we echter de naalden en haarlissen steriliseerden met formoldamp, daalde zij belangrijk.

De transplantaties werden voornamelijk op drie wijzen uitgevoerd.

In de eerste groep operaties (aangeduid met M) werd een strook uit de neuraalplaat gesneden, begrensd vóór en achter door een dwarse snede en terzijde door sneden, welke gingen door het ectoderm onmiddellijk lateraal van den wal (fig. 7). De onderlaag (chordamesoderm) werd zooveel mogelijk intact gelaten. De chorda echter liet moeilijk los en vaak zag ik midden op de ondervlakte van het stuk neuraalplaat chordacellen als een wit streepje zitten. Ook ging vaak zooveel chordaweefsel mee, dat de darmholte in het mediaanvlak geopend werd. Deze vaste verbinding tusschen chorda en neuraalplaat liet zich uit het normale microscopische beeld reeds afleiden. De scheiding van het onderliggende mesoderm ging meestal veel gemakkelijker. Het ectoderm is donkergrijs, het mesoderm is lichter grijs; de chorda en de veel dooiermateriaal bevattende darmwand zijn wit.

De tweede groep van operaties bestond uit transplantaties van stukken neuraalplaat, begrensd door twee dwarse sneden, een mediane snede en een snede lateraal van den rechter wal. Het transplantaat bestond dus uit de rechter helft van transplantaten als

in de eerste groep. Deze groep is aangeduid met H.
 Van een derde groep larven werden stukken uit de

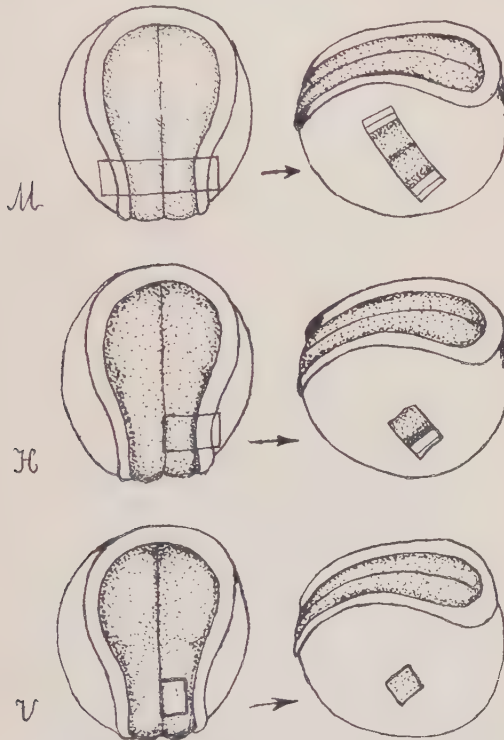


Fig. 7. M. Schema van een operatie, waar een strook uit de neuraalplaat is getransplanteerd in het ectoderm van een ander, evenoud individu. H. Schema van de transplantatie van een strook uit de rechterhelft van de neuraalplaat in het ectoderm van een ander, evenoud individu. V. Schema van de transplantatie van een stuk uit de rechterhelft van een neuraalplaat; hier is de laterale snede binnen den wal gelegd.

neuraalplaat gesneden, begrensd door twee dwarse sneden, een mediane snede en een snede juist mediaal

van den neuraalwal. Deze operaties werden aangeduid met V.

Verder werden nog enkele operaties gedaan, o.a. werden deelen van de neuraalplaat vervangen door ectoderm.

Het transplantaat, eenmaal ingegroeid, krult zich verder om, evenals ander neuraalplaatweefsel; het vormt wallen, welke elkaar naderen, vergroeien en, in de diepte zinkend, door het ectoderm worden bedekt. Dikwijls vond ik aan het levende embryo de plaats van inplanting niet meer terug. Soms evenwel zag ik een welving, waaronder het transplantaat lag. Deze welving was soms vlak, soms was het een kleine tumor, een enkele maal hing aan de larve een poliepje, waarin zich het transplantaat bevond. Steeds echter was het transplantaat door het ectoderm van den gastheer van de buitenwereld gescheiden, m. a. w. er door overgroeid.

HOOFDSTUK IV.

UITKOMSTEN VAN DE EXPERIMENTEN.

A. De invloed van het mesoderm.

Er zijn experimenten verricht, welke een grooten invloed aantoonen van het mesoderm op dat deel van het ectoderm van de gastrula, dat tot neuraalplaat zal worden (MARX (24), LEHMANN (21)). MARX neemt zelfs aan, dat het mesoderm causale beteekenis heeft voor de differentiatie van ectoderm tot neuraalplaatweefsel. In het volgende hoofdstuk zal ik daarop nader ingaan.

De invloed van het mesoderm op de *reeds gevormde* neuraalplaat, welken ik naging, zou een geheel andere moeten zijn. Immers, heeft het mesoderm beteekenis voor de sluiting van de reeds zich differentiërende neuraalplaat, dan zou men kunnen denken, dat dit een mechanische invloed zal zijn. Het mesoderm zou b.v. door groeiverschillen een druk kunnen uitoefenen op de laterale deelen van de neuraalplaat, zoodanig, dat de bekende ombuiging optreedt. (GOERTTLER (13) b.v. ziet hierin een belangrijken factor). Hier pleit iets voor. In normale gevallen n.l. zien we reeds in zeer jonge stadiën het mesoderm zich met een verhevenheidje indringen in den recessus tusschen neuraalplaat en aangrenzend ectoderm. Dit wordt in de latere stadiën,

gelijktijdig met de vorderende sluiting van de buis steeds grooter, groeit n.l. uit tot het dorsale deel van het myotoom, dat immers ook ligt tusschen neuraalbuis en ectoderm (zie fig. 2). Verder zien we, dat de neuraalbuis het eerst sluit in het midden, dus daar, waar de myotomen zich het eerst ontwikkelen. Achter dezen samenhang zou dus een causale beteekenis kunnen schuilen. Moeilijk zou echter te verklaren zijn, hoe dan de sluiting van het voorste deel tot stand kwam, waar immers geen myotomen liggen.

Thans zal ik de ontwikkeling van de getransplanteerde stukken neuraalplaat nagaan. De meeste stukken zijn geworden tot buisjes, die op doorsnee over het algemeen op normaal neuraalbuisweefsel gelijken. Het blijkt nu, dat in sommige gevallen veel, in andere weinig, in enkele in 't geheel geen mesodermweefsel met het neuraalplaatweefsel is getransplanteerd. De chorda is vrij dikwijls meegegaan. De mesodermcellen van het myotoom zijn vooral bij Triton goed te herkennen. De kernen zijn hier namelijk op dwarse doorsnee meest rond of ovaal; ze zijn helderder dan de cellen van de neuraalbuis en hebben duidelijker een nucleolus. De kernen van de dooier zijn alle onregelmatig en plomp. — Eenige der onderzochte larven zal ik hier beschrijven.

Triton M 20.

Geopereerd: 10 April '27 15 u. 30.

Gefixeerd: 15 April '27 16 u.

Een strook is dwars uit de geheele plaat genomen met het aangrenzende ectoderm. Het implantaat is geheel regelmatig door ectoderm overgroeid; later is aan den buitenkant van de larve weinig meer van het implantaat te bemerken. Het microscopisch beeld laat

zien, dat het transplantaat zich heeft ontwikkeld tot een stukje neuraalbuis, normaal gesloten en normaal van structuur. De wand van de buis is verdeeld in basaalplaat (dun), vleugel- plus grondplaten (dik) en

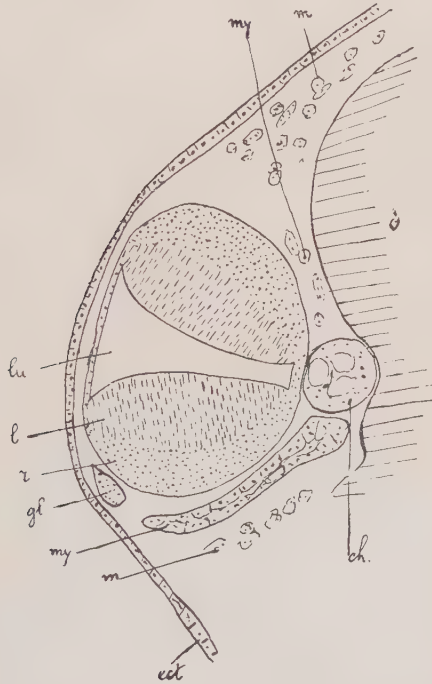


Fig. 8. Triton M 20. Dwarse doorsnee door het transplantaat. *m.* mesoderm; *my.* myotoomweefsel; *ect.* ectoderm; *d.* dooier; *lu.* lumen; *l.* mantel van langwerpige kernen; *r.* mantel van ronde kernen; *gl.* ganglion; *ch.* chorda.

dekplaat (dun). De celrangschikking is volkomen normaal; een binnenste mantel met langwerpige kernen, regelmatig gericht naar ventraal en lateraal; daaromheen een buitenste mantel met kernen, rond op door-

snede. Links van het transplantaat is een ganglion aanwezig en ook een myotoom; rechts slechts enkele losse mesodermcellen. De chorda ligt onder de basaalplaat. Ondanks de geringe hoeveelheid mesoderm rechts, is dus de sluiting normaal tot stand gekomen; de microscopische structuur van de neuraalbuis is, hoewel er rechts weinig mesoderm is, niet verschillend links en rechts. Verschil in dikte tusschen linker- en rechterhelft van het transplantaat in verband met het weinige myotoomweefsel is er ook niet (zie fig. 8).

Triton M 21.

Geopereerd: 12 April '27 15 u. 30.

Gefixeerd: 19 April '27 16 u. 30.

De operatie geschiedde als bij M 20 en had eenzelfde verloop.

Microscopisch onderzoek: Het transplantaat werd tot een stukje normale neuraalbuis, symmetrisch van bouw; basaalplaat, grondplaten, vleugelplaten en dekplaat zijn aanwezig; de kernrangschikking is typisch. Er is weinig mesoderm en geen chorda aanwezig.

Triton M 27.

Geopereerd: 17 April '27 12 u.

Gefixeerd: 5 Mei '27 15 u.

Er is een strook neuraalplaat genomen uit een stadium, waarbij de plaat reeds smal wordt. Daarbij is de snede tot in het ectoderm gevoerd.

Microscopisch onderzoek: Er ontwikkelde zich een vrij normale neuraalbuis; aan één zijde bevindt zich een myotoom; daar ligt ook een ganglion. De vleugel- en grondplaat zijn aan den kant van het myotoom het dikst. De kernrangschikking (binnen- en buitenmantel) is echter aan den kant, waar géén myotoom ligt, ook geheel normaal.

Triton V 16. Geopereerd: 22 April '27 17 u. 30.
 Gefixeerd: 2 Mei '27 18 u. 15.

Uit een breede neuraalplaat werd een strook gesneden, reikende van binnen den neuraalwal aan den éénen kant tot binnen den neuraalwal aan den anderen kant. Het transplantaat groeide goed in en zonk normaal onder het ectoderm. Het implantaat zat later in een heuveltje op den buik van den gastheer. Bij microscopisch onderzoek vertoonde de dekplaat van de neuraalbuis, die uit het implantaat ontwikkeld was, bijzonderheden, waarover later nader gesproken zal worden. Er is een goede sluiting geweest. De vleugelen grondplaten zijn dik en symmetrisch. Rechts ligt naast de neuraalbuis myotoomweefsel, links zijn slechts enkele losse mesodermcellen aanwezig. De celrangschikking in beide vleugelplaten en grondplaten is volkomen normaal.

Triton V 17. Geopereerd: 22 April '27 18 u.
 Gefixeerd: 3 Mei '27 18 u.

Operatie en verloop als bij V 16. Er blijft aan den buik van den gastheer zichtbaar een welving ter plaatse van het implantaat; dit heeft zich tot een neuraalbuis ontwikkeld, waarvan bij microscopisch onderzoek alleen de dekplaat iets atypisch blijkt te zijn. Vrijwel geen myotoomweefsel is naast de buis aanwezig. Toch is er in den wand van de buis een typische rangschikking van de kernen en een typisch gevormd lumen.

Triton M 13. Geopereerd: 1 April '27 15 u.
 Gefixeerd: 8 April '27 22 u.

Getransplanteerd werd een heele strook met aangrenzend ectoderm, in dwarse richting gesneden uit een reeds smaller wordende neuraalplaat. Er ontwik-

kelde zich een stukje neuraalbuis. Bij microscopisch onderzoek blijken lumen, wandverdeeling en kernrangschikking normaal. De buis is symmetrisch. Links van de buis is iets mesoderm aanwezig, rechts niet. Er is geen chorda.

Triton M 11.

Geopereerd: 31 Maart '27 20 u.

Gefixeerd: 8 April '27 16 u.

Er werd een dwarse strook uit een breede neuraalplaat gesneden.

Microscopisch onderzoek: Een vrij normale neuraalbuis is gevormd. Links ligt een myotoom naast de buis, eenige coupes verder in de serie ligt het eronder. De wand van de buis is het dikst in de helft, die het meest met het myotoom in aanraking is. Toch is er een duidelijke basaalplaat. Geen chorda heeft zich ontwikkeld.

Triton M 25.

Geopereerd: 15 April '27 15 u.

Gefixeerd: 22 April '27 18 u.

Er werd een dwarse strook uit een breede neuraalplaat gesneden en getransplanteerd. Bij microscopisch onderzoek vindt men een gesloten neuraalbuis. De rangschikking van de kernen is niet geheel typisch, de buis is onregelmatig, wat dikte en lumen betreft. De zijplaat van het mesoderm van den gastheer loopt er normaal dun onderdoor.

Teneinde den invloed van ento-mesoderm op de sluiting van de neuraalbuis na te gaan, verrichtte ik nog een reeks van proeven. Men kan nl. nog nagaan, wat er gebeurt, wanneer men een stuk ectoderm in de neuraalplaat zet, terwijl men het mesoderm eronder zoo goed mogelijk intact laat.

Axolotl O 1.

Geopereerd: 25 Febr. '27 13 u.

Gefixeerd: 28 Febr. '27 20 u. 30.

Uit de rechterhelft van de neuraalplaat wordt een dwars stuk genomen, mediaal grenzend aan het mediaanvlak, lateraal begrensd door een snede door het ectoderm, evenver buiten den neuraalwal als het mediaanvlak er binnen is. De strook wordt 180° omgedraaid, zoodat de wal weer op zijn plaats komt. Nu ligt dus in het gebied van de neuraalplaat een stuk ectoderm. De neurulatie gaat verder gewoon door (fig. 9).

Bij microscopisch onderzoek bleek, dat de rechterhelft van de neuraalbuis ten deele vervangen is door

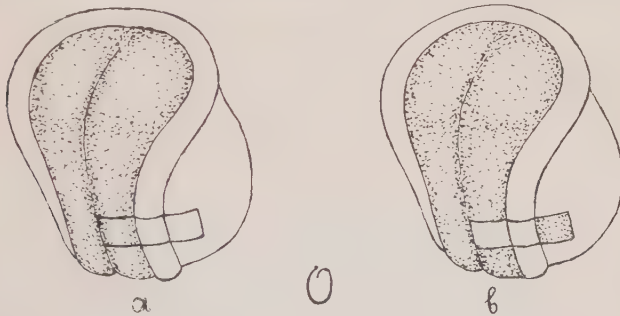


Fig. 9. Schema van de operatie van Axolotl O 1 (blz. 42).
a. vóór de operatie; b. na de operatie.

een dunne plaat met plumpe kernen, blijkbaar het ingezette ectoderm. Het dorsale deel van het myotoom ontbreekt ernaast aan dien kant. (Zie verder voor dit geval op blz. 46). De gevallen H 4 en V 3a leverden een overeenkomstig resultaat.

Hier lijkt het er dus op, alsof op de plaats van de neuraalplaat evengoed een ander weefsel tot buis wordt gevormd. Dus zou de sluiting geen specifieke eigenschap van het weefsel van de neuraalplaat zijn, maar misschien door invloed van de onderlaag, in casu chorda-

mesoderm tot stand komen. Dit is in strijd met de uitkomsten van de experimenten met transplantatie van neuraalplaatweefsel. De sluiting is echter in het beschreven geval aldus te verklaren: vóór en achter het ingezette stuk ectoderm kromt zich de plaat tot een buis, het getransplanteerde stuk zit er tusschen, is er mee vergroeid, het moet dus wel mee rondgetrokken worden. Dat dit niet maar hypothese is, blijkt ook hieruit, dat bij transplantatie van mediale deelen van de neuraalplaat deze deelen zich wel sluiten tot buisjes, maar zonder ooit ectoderm ter compensatie te gebruiken.

Bij de transplantatie van gehalveerde dwarse strooken van de neuraalplaat ziet men eveneens sluiting tot een buis en rangschikking der kernen, zonder dat de aanwezigheid of afwezigheid van myotoomweefsel er iets toe doet. Het lumen is in den regel wat excentrisch in de zoo ontstane buisjes. — Uit deze experimenten volgt dus duidelijk:

I. dat de aanwezigheid van myotoomweefsel niet noodzakelijk is om de sluiting van de eenmaal gevormde neuraalplaat tot buis tot stand te doen komen. Een causale beteekenis voor het sluiten komt dus het uitgroeiend myotoom niet toe ¹⁾).

II. Verder blijkt, *nadat de neuraalplaat uit het ectoderm is ontstaan*, dat:

1°. een verandering in de hoeveelheid onderliggend mesoderm niet steeds een eenvoudig verband heeft met de ontwikkeling in dikte van de betreffende helft van de latere neuraalbuis.

2°. de stand van de kernen in de neuraalbuis onaf-

¹⁾ Hier blijft buiten beschouwing de vraag, of het mesoderm van beteekenis is voor het ontstaan van een neuraalplaat uit het nog niet gedifferentieerde ectoderm. Zie hiervoor blz. 56.

hankelijk is van de aanwezigheid van het mesoderm.

3°. evenzoo het ontstaan van binnenmantel (radiaire kernen) en buitenmantel (op doorsnee ronde kernen) in de neuraalbuis onafhankelijk is van het mesoderm.

4°. een verandering in de hoeveelheid of plaats van het mesoderm geen invloed heeft op de verdeling van de basaalmasa in de grondplaten.

III. Verder blijkt, dat het latere ectoderm slechts voor het sluiten der neuraalplaat wordt gebruikt, wanneer het is gezet in de neuraalplaat.

IV. Ook blijkt neuraalplaatweefsel het mesoderm van de zijplaten van een evenoud individu niet tot myotomen te kunnen induceeren. Op de conclusies onder II genoemd, kom ik later terug.

B. De invloed van de chorda.

Hierover kan ik kort zijn. De aanwezigheid van de chorda heeft in 't geheel geen invloed op de sluiting, noch op de structuur van de neuraalbuis. Bij de transplantaties is de chorda dikwijls meegegaan; een enkele maal is zij wel aanwezig, maar minder goed ontwikkeld, dunner; dikwijls is zij geheel afwezig. Invloed op de sluiting van de neuraalbuis had dit niet en dus is deze invloed met beslistheid uit te sluiten.

C. De invloed van het ectoderm.

Reeds a priori is het onwaarschijnlijk, dat een dun epitheelvlies als het ectoderm de veel dikkere neuraalplaat door druk zal oprollen. Veel eerder zou, wanneer er door een sterken groei spanningen in de oppervlakkige cellaag zouden ontstaan, het ectoderm zelf uitgebocht of geplooid worden. Wanneer toch druk van

het ectoderm voor oorzaak van de kromming van de neuraalplaat wordt aangezien, moet men erbij aannemen, dat het ectoderm een andere elasticiteit heeft dan de neuraalplaat. Namelijk zou het ectoderm steviger moeten zijn en zich meer tegen buigen moeten verzetten dan de neuraalplaat. Deze gedachte kan alleen opkomen bij iemand, die de embryonale ontwikkeling slechts nagaat door het bestudeeren van doorsnee-reeksen en den toestand bij levende embryonen niet kent.

Wat het verschil in stevigheid betreft, het bleek, dat bij de operaties de naald zeker zonder méér weerstand prikte en sneed door het ectoderm dan door de neuraalplaat.

Wat het verschil in buigingsmogelijkheid betreft, ook het omsneden lapje ectoderm liet zich gemakkelijk uit zijn bed oprollen in een kromming, zelfs tegengesteld aan de normale. En uit de transplantaties, waar ectoderm was gezet in de neuraalplaat, bleek het ectoderm zich evengoed te buigen als het neuraalplaatweefsel.

Een spanning in het ectoderm, te beschouwen als oorzaak voor het sluiten der neuraalplaat tot buis, blijkt dus niet aannemelijk. — Hoe zou verder de spanning in het ectoderm ontstaan? Deze zou kunnen ontstaan door groei van het ectoderm in zijn geheel of in deelen ervan. Dit laatste lijkt niet onmogelijk. Het bleek mij namelijk, dat het ectoderm, grenzend aan de neuraalplaat sneller groeit dan het overige.

Wanneer men bij een proef, beschreven als O₁ (blz. 42) een stuk omdraait, zoodat de wal weer op z'n plaats komt, zou men verwachten, het verplaatste stuk neuraalplaat terug te vinden onmiddellijk naast de dorsale middellijn. Het blijkt echter meer lateraal terecht gekomen te zijn. Hieruit volgt een sterkere groei van

het verplaatste stuk ectoderm, d.i. het ectoderm vlak naast de neuraalplaat. Niettegenstaande dezen snellen groei is een invloed van het ectoderm naast de neuraalplaat op de sluiting, gezien het bovenstaande, zeer onwaarschijnlijk. Door de volgende proeven wordt dit bovendien nog bevestigd.

Transplanteert men een strook uit de neuraalplaat, lateraal begrensd door sneden binnen de neuraalwallen, in de praesumptieve buikhuid van een ander individu, dan is dit transplantaat onttrokken aan een eventueel bestaanden invloed van het ectoderm naast de neuraalplaat. Normale sluiting treedt evenwel toch op.

Ook blijkt er sluiting op te treden, als men de strooken inplant loodrecht op haar normale richtingen, door ze dus 90° te draaien. Dit pleit ook tegen de hypothese, dat zijdelingsche druk van het groeiende ectoderm de neuraalplaat tot sluiting zou brengen.

Het ectoderm overgroeit tijdens het sluiten de neuraalplaat. Echter is dit niet de oorzaak voor de kromming van de plaat, waardoor deze tot buis wordt. Neuraalplaat en ectoderm groeien spanningsloos naast elkaar. Eerst stoornis in de ontwikkeling van één van beide kan op de grens een spanning teweegbrengen. Deze spanning, waaraan door GIERBERG (11) groote beteekenis is gehecht, is dan echter pathologisch.

Verder nog dit: is het ectoderm gegroeid tot boven de neuraalplaat, dan kan men geen druk meer veronderstellen, maar slechts een trekkende kracht. Dat deel van de neuraalplaat, dat dus meer dan 90° gekruld is, zou voor zijn wigvormige cellen weer een anderen vorm moeten krijgen, nl. cilindrisch of zelfs wigvormig met de spitse punt van de oppervlakte afgekeerd. Dit ziet men niet in het normale beeld.

Trouwens, alle spannings- en druktheorieën ontstonden als gevolg van de door W. His (16) het eerst gegeven voorstelling, dat morphogenetische processen onder invloed van druk-, trek- en spanningskrachten van de naburige deelen verliepen. Maar „die experimentelle Erforschung der Formbildung hat *nichts, aber auch gar nichts* davon bestätigen können” (PETERSEN 1923).

D. De invloed van de celverandering.

Na het bovengezegde blijft er niets anders over, dan de oorzaak van de kromming van de plaat tot buis in de neuraalplaat zelf te zoeken.

Er moeten dus in de plaat zelve krachten werkzaam zijn, zoodanig dat de buitenoppervlakte van de latere buis (diepe oppervlakte van de plaat) zich moet vergrooten ten opzichte van de binnenvlakte.

Microscopisch onderzoek leert, dat er geen zichtbare structuurbijzonderheden zijn, die de sluiting kunnen bewerkstelligen, behalve misschien de vormverandering der cellen van de neuraalplaat. Daar deze celvormverandering zóó constant bij de kromming aanwezig is, zou het niet onmogelijk kunnen zijn, dat ze niet een begeleidend verschijnsel, maar de oorzaak van de kromming is. De transplantaties leveren aanwijzingen voor de juistheid van deze veronderstelling.

Laat ik nl. nagaan, wat er gebeurt, wanneer door een of andere oorzaak, b.v. een mechanische beschadiging, in het transplantaat de regelmatige rangschikking der kernen (gevolg van de regelmatige celvormverandering) niet optreedt.

Bij afwezigheid van deze celrangschikking ontstaat geen holte, dus geen buis, maar een vormlooze klomp

zenuwcellen. Toch zijn in die gevallen vele cellen slank uitgegroeid, ofschoon dit hier niet door drukkrachten is te verklaren; immers de cellen liggen onregelmatig door elkaar (H 9, V 9, V 10, V 18, V 7).

Soms ontstaan buizen met een onregelmatigen wand en een onregelmatige holte. De holte heeft dan naast onregelmatige gedeelten ook plaatsen, waar de wand wel gelijkmatig gebogen is. Slechts die deelen van de holte, die toch nog regelmatig zijn, worden dan begrensd door cellen met regelmatig loodrecht op den wand staande, langgerekte kernen (M 30, M 14 e.a.)

Triton M 30.

Geopereerd: 23 April '27 16 u.

Gefixeerd: 2 Mei '27 18 u. 15.

Getransplanteerd is een dwarse strook, achter uit een reeds smalle plaat, doorgaand tot in het aangrenzend ectoderm. Bij microscopisch onderzoek ziet men het neuraalkanaal gesloten. Bij het doorzien van de coupenserie ziet men in een bepaalde coupe aan de ééne zijde aan den wand een verdikking, die in de holte uitpuilt, verderop wordt dit tot een onregelmatig tusschenschot. Er ontstaat zoo een zeer onregelmatige holte. Een deel ervan wordt begrensd door een regelmatig gebogen vlak, daar waar de wand wordt gevormd door een plaat, bestaande uit cellen met langwerpige, regelmatig loodrecht op het oppervlak staande kernen.

Dat met een regelmatige rangschikking van de cellen een regelmatige vorm van het oppervlak gepaard gaat, ziet men ook aan Triton V 16 (zie blz. 40). Hier is nl. geen dunne dekplaat gevormd, maar zijn de dorsale uiteinden van de vleugelplaten vergroeid tot één dikke, weinig gebogen dekplaat met regelmatig loodrecht op het oppervlak staande kernen.

Triton V 5.

Geopereerd: 31 Maart '27 9 u.

Gefixeerd: 8 Mei '27 16 u.

Getransplanteerd is het mediale deel van een strook uit de rechter neuraalplathelft. De chorda-aanleg is meegegaan; de snede lag blijkbaar iets links van het mediaanvlak. Dit stuk is geïmplanteerd in een jonger individu, waar de neuraalwallen nog niet zichtbaar

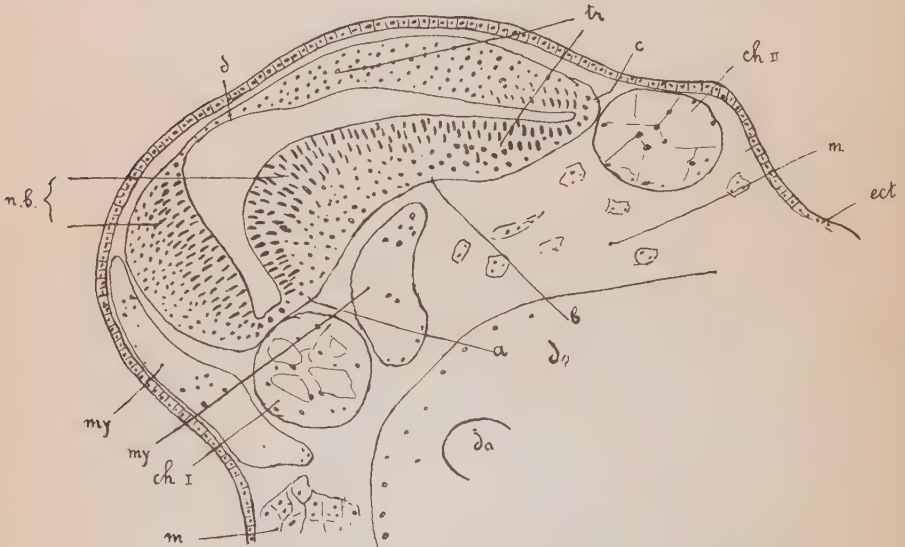


Fig. 10. Triton V 5. *ect.* ectoderm; *m.* mesoderm; *ch. II* getransplanteerde chorda; *ch. I* chorda van den gastheer; *my.* myotoom; *da.* darmholte; *do.* dooier; *nl.* neuraalbuis van den gastheer; *tr.* getransplanteerde neuraalbuis.

waren. Vijf uur later waren de wallen van den gastheer zichtbaar en het bleek nu, dat het implantaat was terecht gekomen juist in den wal van den gastheer. Het groeide goed in en zonk met de neuraalplaat van den gastheer in de diepte. Van den gastheer werden dwarscouples gemaakt. Eén ervan is afgebeeld in fig. 10. Deze figuur toont, dat de holte van het transplan-

taat nu communiceert met die van de neuraalbuis van den gastheer. Onder het transplantaat, zoowel als onder de normale neuraalbuis, ziet men een doorgesneden chorda.

Waarom is hier nu echter de wand tusschen de twee chordae naar binnen gebogen? De rangschikking van de kernen is immers regelmatig. Druk van het onderliggende myotoom is uit te sluiten na het bovengezegde. Men moest toch bij de regelmatige rangschikking één groote, ronde buis verwachten, waar in den wand zich twee basaalplaten bevonden met onder elk een chorda!

Deze moeilijkheid laat zich echter aldus verklaren: *ab* (fig. 10) krult op de gewone wijze om, meegetrokken door de, er voor en er achter liggende, normaal zich sluitende neuraalplaat. Het dorsale einde van de zijvleugels wordt echter in zijn beweging gehinderd, doordat het implantaat er aan vastzit; daarom is dit deel van de primaire vleugelplaat naar buiten gebogen en gaat het daar regelmatig over in het weefsel van het transplantaat. — Een dergelijk geval vertoont H 11.

Merkwaardig is ook de volgende waarneming:

Axolotl M 5.

Geopereerd: 24 Febr. '27 16 u.

Gefixeerd: 27 Febr. '27 12 u.

Het transplantaat groeit niet goed in. De randen van de wond hypertrophiëeren dusdanig, dat ze de plaat (alleen aan de randen gebogen) overgroeien. De neuraalplaat ligt dus als een vrij platte plaat rondom in dooierweefsel van den gastheer, in een verhevenheid op diens zijde. Onder de eene helft ligt een meegetransplanteerd myotoom. De kernen van de neuraalbuis zijn slank, staan loodrecht op het oppervlak; invloed van het myotoom op de dikte van de ééne plaathelft blijkt niet.

Hier is de kromming niet opgetreden; toch vertoonen de kernen een duidelijk begin van de strekking. M. a. w. de celvormverandering is primair aan de kromming van de plaat. De kracht was blijkbaar te gering om den weerstand van het omgevende dooierweefsel te overwinnen, zoodat de kromming uitbleef.

De celvormverandering treedt het eerst op lateraal in de plaat; dan is het nog niet krullende deel nog geheel in rust. Snijdt men een stuk uit de breede neuraalplaat, zóó, dat van het reeds krullende deel niets meegaat, dan blijkt bij de transplantatie, dat het implantaat toch normaal kromt; de celvormverandering treedt er in op, zonder dat deze dus voortgeleid is van lateraal gelegen plaatgedeelten.

Verder blijkt bij transplantatie van kleine stukken, dat de kromming niet bij een zekeren graad ophoudt, maar doorgaat tot het implantaat tot een buis gesloten is.

HOOFDSTUK V.

BESCHOUWING.

De neuraalplaat kromt zich dus door krachten, welke in haarzelf werken. En wel doordat de cellen wigvormig worden, alle met haar spitse einden naar den zelfden kant. Hierdoor krijgt de eerst platte neuraalplaat een grooter oppervlak aan den binnenkant. Tengevolge hiervan wordt de plaat waarschijnlijk buisvormig.

Het model van RHUMBLER (25), dat trouwens geldt voor de gastrulatie, maar ook bij de neuraalbuisluiting een goed inzicht geeft, toont duidelijk, dat bij de actieve celvormverandering als beschreven op blz. 25, een instulping, een buisvorming, plaats heeft.

Andere modellen toonen het eveneens. Het model van SPEK (32) geeft bovendien een denkbeeld van de mogelijke oorzaak der kromming. Het bestaat uit een hollen bol van gelatine. Op een gedeelte is aan den binnenkant een laagje agar aangebracht. Agar zwelt in water sterker dan gelatine. Plaatste men het model nu in water, dan trad een instulping op ter plaatse van de agar. De verklaring ligt hierin, dat op de plaats van de agar de binnenwand sterker zwelt dan de buitenwand, die uit gelatine bestaat.

Ditzelfde zien we bij de neuraalplaat bij Urodelen. De diepe laag van de plaat zwelt meer dan de oppervlakkige. Hoe komt dit verschil in zwelling hier tot

stand? Het ligt voor de hand om evenals bij het model van SPEK de verklaring te zoeken in een verschil in wateropname. Wanneer de celdeelen diep in de plaat meer water opnemen en dus meer zwellen dan de oppervlakkige, was het verschijnsel eenvoudig verklaard. Echter zou men dan deze wateropname weer moeten verklaren. De studie hiervan is een onderwerp op zichzelf en ik heb mijn onderzoek hierover niet uitgestrekt.

Een enkele opmerking over de differentiatie van het neuraalplaatweefsel moge hier evenwel nog volgen.

Er zijn experimenten gedaan door LEHMANN (21), hoewel met een geheel ander doel, welke m. i. er op wijzen, dat het mesoderm hierin een belangrijke rol speelt. LEHMANN ging na, welken invloed het had op de ontwikkeling van de neuraalplaat, wanneer de hoeveelheid onderliggend mesoderm vanaf de jongste stadiën gewijzigd werd. Bij beginnende gastrulatie ligt het latere mesoderm nog aan de oppervlakte en wel lateraal en dorsaal van de uiteinden van den halve-maanvormigen oermond. Dit praesumptieve mesoderm wordt gedurende de gastrulatie door den oermond naar binnen gestulpt en schuift dan onder het ectoderm, dat later tot medullairplaat wordt. Hier differentiëert het mesoderm zich tot myotomen, terwijl het deel, dat meer naar lateraal groeit, tot zijplaat wordt. LEHMANN bracht nu defecten aan bij jonge gastrulae ter plaatse van het praesumptieve mesoderm. Hij zag dan aan de larven, wanneer de neuraalbuis zich gesloten had, een defect in het mesoderm, hetwelk grooter of kleiner was. LEHMANN ging na, wat de invloed was, dien dit defect had op de quantitative ontwikkeling van de neuraalbuis. Bij enkele larven zag hij bovendien de sluiting,

de kromming van de neuraalplaat uitblijven. Dit was het geval met larven, waarbij van het mesoderm onder de plaat zeer weinig was overgebleven. Hij zag echter, dat in deze gevallen ook uitbleef de „Randwulst”, de verdikking van het laterale deel der neuraalplaat naar binnen toe; eveneens bleef de typische, radiaire rangschikking der kernen uit in dit deel. LEHMANN gaat op het verband niet verder in. Hij meent, dat de „Randwulst” zou ontstaan door een naar dieper niveau verschuiven van cellen (zie boven).

Mijn praeparaten toonden evenwel, dat de „Randwulst” ontstaat door een in de lengte uitgroeien van de cellen naar binnen toe; de rangschikking der kernen (niet geheel radiaal; zie boven) ontstaat door het wigvormig worden der cellen. Daar we deze twee veranderingen van de cellen als oorzaak gezien hebben voor de neuraalplaatkromming, is het duidelijk, waarom in de gevallen van LEHMANN de sluiting niet optrad. Het uitblijven van de „Randwulst” was een uiting van het niet in de lengte uitgroeien der cellen; het uitblijven der radiaire rangschikking is het bewijs, dat de cellen niet wigvormig werden. Kromming der neuraalplaat door eigen krachten kon dus niet optreden. Het ectoderm trad blijkbaar niet op als compenseerende kracht bij het sluiten. GOERTTLER (13) meende, dat in de proeven van LEHMANN de sluiting niet optrad, omdat er geen onderliggend mesoderm aanwezig was, dat de buis dicht kon drukken. Het onjuiste van deze zienswijze heb ik echter m.i. duidelijk aangetoond in het vorige hoofdstuk. De proeven van LEHMANN zouden ons er dus op wijzen, dat het praesumptieve neuraalplaatmateriaal door het ondergelegen mesoderm wordt geïnduceerd tot de vorming van hooge, wigvormige

cellen. Niet direct mechanisch, maar op andere wijze zou dus het mesoderm een groote rol spelen bij de sluiting van de neuraalbuis. Langs welken weg deze invloed plaats heeft, zou ik niet durven zeggen.

Dat er evenwel een groote invloed van het mesoderm bestaat op het praesumptieve medullairplaatweefsel bewijzen ook de proeven van MARX (24). Deze proeven doen zelfs sterk vermoeden, dat het mesoderm het indifferente ectoderm induceert tot neuraalplaatweefsel. Wanneer MARX uit een gastrula het geheele invaginaat verwijderde, ontstond in het ectoderm geen neuraalplaat. Wanneer hij verder in een blastula een stukje darmdak (d.i. chorda-mesoderm weefsel) van een jonge gastrula bracht, kwam dit na de gastrulatie te liggen ergens onder het ectoderm, waar het tegenaan werd gedrukt door het invaginaat. Op deze plaats ontstond dan uit het ectoderm van den gastheer een medullairplaat. Verder transplanteerde hij stukjes praesumptief neuraalplaatweefsel uit gastrula-stadiën. Dit is dan nog indifferent. Soms werd het transplantaat tot neuraalplaatweefsel, soms niet. Het al of niet ontstaan van zenuwweefsel bleek samen te gaan met het al of niet meegetransplanteerd zijn van darmdak.

Na deze experimenten lijkt dus de aanwezigheid van onderliggend mesodermweefsel de *conditio sine qua non* te zijn voor het ontstaan van zenuwweefsel uit ectoderm van de gastrula.

Evenwel bleek het GOERTTLER (13), dat de differentiatie van het ectoderm nog bijzondere voorwaarden eischte. GOERTTLER transplanteerde praesumptief medullairplaatweefsel uit blastulae in het ectoderm van larven met neuraalplaten. Het bleek nu, dat het geïmplanteerde ectoderm zich alleen maar differentiëerde tot

zenuwweefsel, wanneer de normale verschuiving van het ectoderm van den gastheer overeenkwam met de krommingsrichting van het implantaat. Werd dit implantaat ingezet in een stand, zóó dat deze twee richtingen loodrecht op elkaar stonden, dan volgde geen differentiatie.

Zette GOERTTLER een stuk praesumptief medullairplaatweefsel uit een blastula in een embryo, waar de neuraalbuis reeds gesloten en dus de ectodermverschuiving reeds afgelopen was, dan volgde geen differentiatie van het implantaat tot zenuwweefsel, onverschillig in welke richting het werd ingezet.

Alléén dus, waar er bij den gastheer ectodermverschuiving bestond, en wel in een richting, gunstig voor het implantaat (d.i. in de richting van diens normale kromming) ontstond uit het getransplanteerde stuk praesumptief medullairplaatweefsel van een blastula (van Axolotl, Pleurodeles en andere Urodelen) zenuwweefsel, n.l. een kleine medullairbuis.

GOERTTLER trekt uit zijn experimenten belangrijke conclusies over het tijdstip en de oorzaak van de determinatie van het zenuwweefsel en neemt hier stelling tegen SPEMANN en diens school. Deze kwesties wil ik in het midden laten. Belangrijk is echter, waar GOERTTLER tot de conclusie komt, dat de „Formbildung”, d.i. het ontstaan van den vorm door celverschuivingen, nauw verbonden is met de differentiatie van weefsels. Waar de celverschuiving in zijn experimenten niet bestaat of ongunstig is van richting voor het implantaat volgt geen differentiatie. Toch ziet ook GOERTTLER de differentiatie niet als een eenvoudig gevolg van mechanische verhoudingen.

Nu bestaan er m.i. groote bezwaren tegen het

transplanteeren van deelen uit jonge stadiën in belangrijk oudere. Immers door de verder gegane differentiatie kunnen er bij den gastheer veranderingen zijn gekomen van physischen of chemischen aard, welke maken, dat het implantaat in een vreemde omgeving komt. Talrijke belangrijke factoren treden dan op, die die we niet kunnen contrôleeren.

Dat verder een differentiatie uitblijft bij ongunstige implantatie in de proeven van GOERTTLER, bewijst volstrekt niet (hetgeen trouwens GOERTTLER ook niet beweert), dat de celverschuiving de oorzaak is van de differentiatie. Indien n.l. in ectoderm, waarin de verschuivingsprocessen zijn afgeloopen, een gedeelte praesumptief medullairplaatweefsel wordt geplaatst, dan kan dat zich niet differentiëren; immers wanneer het aangrenzend ectoderm niet toegeeft, kunnen de cellen niet hoog, smal en wigvormig worden, daar het er steeds mee gepaard gaande versmallen en omkrullen van de neuraalplaat onmogelijk is. Dit bewijst ook het praeparaat M 5 (blz. 51); hier verhindert de omgevende dooier de kromming van de plaat. Dat werkt terug op de differentiatie, wat betreft de cel- en kernvorm. Deze ondervindt nu n.l. mechanische belemmeringen.

Wanneer ik ten slotte nog wijs op de wijze van ontstaan van een neuraalbuis bij enkele andere dieren, dan blijkt het ook hier waarschijnlijk een kracht in de neuraalplaat zelf, dus een differentiatie te zijn, welke het ontstaan van de neuraalbuis veroorzaakt.

Bij amphioxus zinkt de neuraalplaat plat in de diepte, raakt los van het ectoderm en krult zich daarna om tot buis. Invloed van het ectoderm is hier uitgesloten.

Bij beenvisschen o.a. ontstaat geen krommende of plat in de diepte zinkende neuraalplaat. De neuraal-

plaat wordt smaller en tot een dikke, soliede streng, welke in de diepte zinkt. Hierin ontstaat na het verzinken een holte, zoodat een buis ontstaat. Hier is dus elke mechanische invloed van buiten uitgesloten. Slechts krachten in de celstreng, en deze krachten moeten dan door differentiatie van den vorm der cellen ontstaan, veroorzaken het ontstaan van de neuraalbuis.

In analogie hiermede, behoeven dus mijn uitkomsten bij dieren, waar de neuraalbuisvorming op een minder direct begrijpelijke wijze geschiedt, geen verwondering te wekken. Ondanks het verschil in morphogenese, blijkt toch weer uit deze experimenten een analogie in de ontwikkeling bij de verschillende diersoorten.

SAMENVATTING.

Wanneer ik de resultaten van mijn onderzoek bij larven van *Axolotl* en *Triton taeniatus* samenvat, kom ik in hoofdzaak tot het volgende:

1. enkele bijdragen worden geleverd tot de kennis van den bouw van de normale neuraalplaat bij *Axolotl* en *Triton taeniatus*.

2. de kromming van de neuraalplaat en de sluiting tot buis komen niet tot stand door eenvoudige, mechanische krachten, welke van buiten af op de neuraalplaat werken, noch van het ectoderm, noch van het chorda mesodermweefsel, maar door oorzaken in de neuraalplaat zelf.

3. *a.* de oorzaak van de kromming in de plaat zelf is te zoeken in een celvormverandering in de neuraalplaat. Deze celvormverandering bestaat hierin, dat de cellen van den vorm van de ectodermcellen worden tot hooge, smalle wiggen, welke wiggen met de spitse

einden naar de buitenoppervlakte gericht liggen. Deze celvormverandering treedt het eerst op in de laterale deelen van de plaat en schrijdt vandaar voort naar mediaal.

b. maar bij onderbroken samenhang tusschen de laterale en mediale gedeelten treedt in de mediale, onafhankelijk van de laterale, de celvormverandering zelfstandig op.

c. bij transplantatie van deelen van de neuraalplaat, welke niet de geheele breedte betreffen, ontstaan toch weer gesloten buizen.

4. er bestaat na experimenteele verandering (in het stadium met breede neuraalplaat) van de hoeveelheid onder de neuraalplaat liggend mesoderm geen eenvoudig verband tusschen deze mesodermdefecten en de structuur en ontwikkelingsgraad van de aangrenzende neuraalbuis.

5. ectoderm van een larve uit het neuraalplaat-stadium, geplaatst in de nog zeer breede neuraalplaat, helpt den lateren neuraalbuiswand vormen, maar neemt niet de structuur aan van den buiswand.

6. neuraalplaatweefsel, geplaatst in het ectoderm van een evenoude larve induceert het onderliggend zijplaat-mesoderm niet tot de vorming van myotomen.

LITTERATUURLIJST.

1. BAKER, R. C. The early development of the ventral part of the neural plate of *Amblystoma*. The Journ. of Comp. Neurology, Vol. 44, No. 1, 1927.
2. BAMBEKE, M. van. Considérations sur la génèse du névraxe. Arch. de Biologie T. XXIII 1908.
3. BRACHET, A. Recherches sur l'ontogénèse des Amphibiens urodèles et anoures (*Sired. piscif*; *Rana temp*). Arch. de Biologie T. XIX 1902.
4. BRAUS, H. Ueber Zytoarchitektonik des embryonalen Rückenmarkes. Anat. Anz. Ergänz. heft 53, 1920.
5. Dez. Rückenrinne und Rückennaht der Tritongastrula. Anat. Anz. 20, 1902.
6. BUYTENDIJK, F. J. J. en M. W. WOERDEMAN. Die physicochemischen Erscheinungen während der Ei-Entwicklung. W. Roux' Arch. f. Entw. mech. d. Organismen Bnd. 112, 1927.
7. CLARKE, S. F. The development of *Amblystoma punctatum*. Studies from the biol. labor. John Hopkins University 1879.
8. DÜRKEN, F. Einführung in die Experimentalzoologie.
9. EYCLESIIJMER, A. C. The early development of *Amblystoma*. Journal of Morph. Vol. X 1895.
10. GIERSBERG, H. Beiträge zur Entwicklungsphysiologie der Amphibien. II Untersuchungen zur Neuration bei *Rana* und *Triton*, Arch. f. mikr. Anat. u. Entw. mech. Bnd. 103, 1924.

11. GIERSBERG, H. Beiträge zur Entwicklungsphysiologie der Amphibien. III Neue Untersuchungen zur Neurulation bei Rana und Triton. W. Roux' Arch. f. Entw. mech. d. Organ., Bnd. 107, 1926.
12. GOERTTLER, K. Die Formbildung der Medullaranlage bei Urodelen. W. Roux' Arch. f. Entw. mech. d. Organismen, Bnd. 106, 1925.
13. Dez. Die Bedeutung gestaltender Bewegungsvorgänge beim Differenzierungsgeschehen. W. Roux' Arch. f. Entw. mech. d. Organismen, Bnd. 112, 1927.
14. GRIGGS, LELAND. Early stages in the development of the central nervous system of Amblystoma punctatum. Journ. of Morphology V. 21, 1910.
15. HERTWIG, O. Handbuch der Entwicklungsgeschichte. Bnd. 2, Tl. 3, 1906.
16. HIS, W. Unsere Körperform und das physiologische Problem ihrer Entwicklung. Leipzig 1874.
17. HOUSSAY, F. Etudes d'embryologie. L'Axolotl. Arch. de Zoologie expérimentale, 2e serie Tome VIII, 1890.
18. HOUSSAY et BATAILLON. Segmentation de l'oeuf et sort du blastopore chez l'Axolotl. Comptes rendus des séances de l'acad. des sciences, T. 107, 1888.
19. HOUSSAY et BATAILLON. Formation de la gastrula, du mésoblaste et de la chorda dorsale chez l'Axolotl. Comptes rendus T. 107, 1888.
20. LAMPERT, K. Zur Genese der Chorda dorsalis beim Axolotl. Sitzungsberichte d. phys.-mediz. Sozietät in Erlangen, 1889.
21. LEHMANN, F. E. Entwicklungsstörungen in der Medullaranlage von Triton, erzeugt durch Unterlageungsdefekte. WILH. ROUX'. Arch. f. Entw. mech. d. Organ., Bnd. 108, 1926.
22. Dez. Entwicklungsstörungen in der Medullaranlage

- von Triton als Folge von Defekten im unterlagernen Mesoderm. Verhandl. d. deutsch. Zool. Ges. Zool. Anz. 2. Suppl. Bnd, 1926.
23. Dez. Further studies on the morphogenetic rôle of the somites in the development of the nervous system of Amphibians. The Journ. of Exp. Zoology. Vol. 49, No. 1, 1927.
 24. MARX, A. Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Determination der Medullarplatte. W. Roux', Arch. f. Entw. mech. d. Org., Bnd. 105, 1925.
 25. RHUMBLER L. Methodik der Nachahmung von Lebensvorgängen durch physikalische Konstellationen. Abderhaldens Handb. der biol. Arbeitsmethoden, Abt V, Tl. 3 A, 1923.
 26. RÖTHIG, P. Ueber die Rückenrinne beim Ei des Triton taeniatus. Anat. Anz., Bnd. 19, 1901.
 27. ROUX, W. Beiträge zur Entwicklungsmechanik des Embryo. Zeitschrift für Biologie, Bnd. 21, 1885.
 28. Dez. Ueber die Lagerung des Materials des Medullarrohres im gefurchten Froschei. Anat. Anz., Bnd. 3, 1888.
 29. Dez. Für unser Programm und seine Verwirklichung. Arch. f. Entw. mech. d. Organ., Bnd. 5, 1897.
 30. RUFFINI, A. L'ameboidismo e la secrezione in rapporto con la formazione degli organi e con la sviluppo delle forme esterne del corpo. Anat. Anz., Bnd. 33, 1908.
 31. SCHULTZE, O. Ueber die Entwicklung der Medullarplatte des Froscheies. Verhandl. d. Phys.-Mediz. Gesellschaft zu Würzburg, 1889.
 32. SPEK. Studien über den Mechanismus der Gastrula-invasion. Biol. Zentralblatt 39, 13 (1919).

33. SPEMANN, H. Ueber eine neue Methode der embryonalen Transplantation. Verhandl. d. deutschen Zool. Gesellsch. 1906.
 34. Dez. Ueber die Entwicklung umgedrehter Hirnteile bei Amphibienembryonen. Zool. Jahrbuch, Suppl. 15, Bnd. 3, 1912.
 35. Dez. Mikrochirurgische Operationstechnik. Abderhaldens Handb. d. Biol. Arbeitsmethoden, Abt V, Teil 3 A, 1923.
 36. SUMI, R. Ueber die Emigration der Pigmente im Zentralnervensystem während des Entwicklungsverlaufes bei Hynobius. Folia anat. Japonica, Bnd. 5. Heft 4. 1927.
 37. VERNONI, G. Studi di Embriologia sperimentale. L'azione del radio sull uovo di pollo. Arch. f. Entw. mech. d. Organismen, Bnd. 31, 1911.
-

STELLINGEN.

I.

De cellen van SCHWANN, in de perifere zenuwen, zijn niet van mesodermalen herkomst.

II.

Het is niet bewezen, dat het gehoorblaasje uit het ectoderm ontstaat, onafhankelijk van een induceerenden invloed van het onderliggende hersenweefsel.

III.

Bij vele gevallen van varices verdient de behandeling met injecties van salicylas natricus aanbeveling.

IV.

In beginsel moeten vele gevallen van syringo-myelie worden opgevat als een gevolg van verwikkelingen bij het sluitingsmechanisme van de neuraalbuis.

V.

De aangeboren craniotabes is niet altijd te beschouwen als een symptoom van rachitis.

VI.

Wanneer men maagkanker vermoedt, geve men in het proefontbijt voor het verrichten van functioneel maagonderzoek geen thee.

VII.

Bij een vermoeden op slokdarm-perforatie door een vreemd lichaam geeft het verschijnsel van Minnigerode geen indicatie tot het openleggen van het peri-oesophageale weefsel.

VIII.

Bij de behandeling van de vrouwelijke genitaal-tuberculose, verdient Röntgenbestraling de voorkeur boven de radicaal-operatie.
